



* 5 3 0 9 8 4 5 4 9 6 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

22767

X-53-3674386

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria

TESIS DOCTORAL

**PERFIL ANALÍTICO-TOXICOLÓGICO EN CADÁVERES DE
DROGODEPENDIENTES TRAS ADMINISTRACIÓN RECIENTE
DE HEROÍNA Y SU VALORACIÓN MÉDICO-LEGAL.**

Directores :

Dr. D. Vicente Moya Pueyo.

Dr. D. David Martinez Hernandez.

Luis J. Segura Abad

Madrid, junio 1998.



INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

VICENTE MOYA PUEYO, Catedrático de Medicina Legal del Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria, y DAVID MARTINEZ HERNANDEZ, Profesor Asociado del Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública e Historia de la Ciencia, de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICAN: Que el trabajo presentado por D. LUIS JUAN SEGURA ABAD que lleva por título "Perfil analítico-toxicológico en cadáveres de drogodependientes tras administración reciente de heroína y su valoración médico-legal.", ha sido realizado bajo su dirección y reúne los requisitos necesarios para ser presentado como Tesis Doctoral.

~~EL DIRECTOR~~

Madrid, 24 de junio de 1998

El Director de la Tesis

El Director de la Tesis

Fdo.: V. MOYA PUEYO
(Fecha y firma)

DNI 1.760.690

Fdo.: D. MARTINEZ HERNANDEZ
(Fecha y firma)

DNI 22.444.699

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

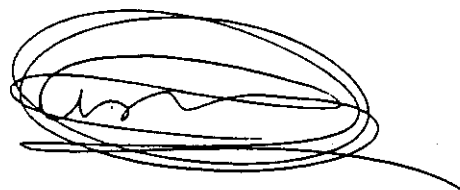
Reunido el Consejo de Departamento y analizado el trabajo presentado por D. LUIS JUAN SEGURA ABAD, que lleva por título "Perfil analítico-toxicológico en cadáveres de drogodependientes tras administración reciente de heroína y su valoración médico-legal.", considera que reúne los requisitos necesarios para ser presentado como tesis doctoral.

Madrid, 26 de junio de 1998.

Fecha reunión
Consejo Departamento

25-6-98

El Director del Departamento



Fdo.: J.M. RUIZ DE LA CUESTA
(Fecha y firma)

***A mis padres,
que perviven cada día en mi recuerdo.***

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar quiero agradecer a los directores de esta tesis, Profesores D. Vicente Moya y D. David Martínez la confianza que han depositado en mí, su dedicación y asesoramiento en todo el trabajo y especialmente en la difícil parcela del tratamiento estadístico de los resultados.

Este trabajo no lo podría haber realizado sin la colaboración de mis compañeros del laboratorio de toxicología: Carlos Tortosa, Emilia Hernández, Begoña Bravo, M^a José Perea, Gemma Zapater y Manuel Calvin. Todos ellos han participado en las tareas analíticas, el tratamiento de los resultados y en la búsqueda de documentación. Quiero agradecerles la confianza, la comprensión y la amistad que me han demostrado siempre y especialmente la dedicación durante la realización de esta Tesis.

Al Director del Instituto Anatómico Forense, Dr. D. José M^a Abenza, por la confianza que depositó en mi hace años para desarrollar el laboratorio de toxicología, contra "viento y marea", el apoyo siempre acertado de su gestión y su amistad han hecho posible este trabajo.

También quiero expresar mi reconocimiento al Profesor D. José M^a Ruiz de la Cuesta por su estímulo y asesoramiento, al Dr. Fernando Bandrés que ha tenido la paciencia de aguantar mis dudas y me ha orientado en momentos difíciles, al Dr. José A. Sánchez que ha participado activamente en la iconografía, la Dra. M^a Teresa Ramos por sus precisas aportaciones.

Si alguien ha seguido y "perseguido" la realización de esta Tesis con especial entusiasmo ha sido la Dra. María Herrera, sus esfuerzos para allanar los complejos trámites administrativos y su sincera amistad basada en la confianza, han sido un motivo fundamental para que este trabajo vea la luz.

No puedo dejar de mencionar en estos agradecimientos a mis compañeros del Instituto Anatómico Forense: Dr. Manuel Molina, Dr. José Luis Prieto, Dra. Esperanza Nuñez y Dr. Andrés Bedate cuya experiencia reciente de doctorados me ha sido de gran utilidad.

También el Dr. Mariano Perea me ha ofrecido el apoyo que en momentos difíciles se necesita para culminar esta tarea.

Quiero mencionar de forma especial al Dr. D. Francisco Ladrón de Guevara (†), que junto con el Dr. Rafael Garrido-Lestache me iniciaron en el complejo mundo de la toxicología y me transmitieron la ilusión por los aspectos analíticos de la toxicología forense. Les agradezco lo que aprendí de ellos en el plano profesional y humano.

A todo el personal del IAF, especialmente a los ayudantes de autopsias y trabajadores sociales por su colaboración.

A los médicos forenses que han colaborado con este proyecto y a quienes ha supuesto más de una molestia en su trabajo.

ÍNDICE.

ÍNDICE.

	Página.
1. MOTIVACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	1
1.1 MOTIVACIÓN.	2
1.2 HIPÓTESIS.	5
1.3 OBJETIVOS.	7
2. INTRODUCCIÓN.	8
2.1 DROGAS DE ABUSO.	10
2.1.1 Concepto y criterios diagnósticos.	11
2.1.2 Tipos y clasificación.	14
2.2 OPIÁCEOS.	21
2.2.1 Concepto.	21
2.2.2 Clasificación.	23
2.2.3 Descripción general de algunos opiáceos.	
Elementos de toxocinética.	25
2.2.3.1 Morfina.	25
2.2.3.2 Codeína.	27
2.2.3.3 Metadona.	30
2.2.3.4 Propoxifeno.	32
2.2.3.5 Otros opiáceos.	35
2.3 HEROÍNA.	39
2.3.1 Perspectiva histórica.	39
2.3.2 Elaboración.	41
2.3.3 Impurezas, adulterantes y diluyentes.	43
2.3.4 Epidemiología del consumo de heroína.	46
2.3.5 Epidemiología en España. Datos sobre los	
"indicadores" del SEIT.	50
2.3.6 Elementos toxocinéticos de heroína.	57
3. MATERIAL Y MÉTODOS.	59
3.1 MATERIAL.	60
3.1.1 Población de estudio.	60
3.1.1.1 Criterios de inclusión.	60
3.1.1.2 Grupos muestrales.	61
3.1.2 Datos generales de la población.	62
3.1.2.1 Sexo.	62
3.1.2.2 Estado civil.	64
3.1.2.3 Edad.	66
3.1.2.4 Data de la muerte.	67
3.1.3 Antecedentes de dependencia.	68
3.1.3.1 Droga preferente.	68

3.1.3.2 Vía de administración.	70
3.1.3.3 Lugar de tratamiento deshabitador.	72
3.1.3.4 Antecedentes médicos: hepatitis, SIDA.	75
3.1.4 Datos médico-forenses.	78
3.1.4.1 Procedencia del cadáver.	78
3.1.4.2 Etiología médico-legal.	80
3.1.4.3 Causa fundamental de la muerte.	81
3.1.4.4 Causa inmediate de la muerte.	83
3.1.5 Protocolo de recogida de datos.	86
3.1.6 Material de laboratorio.	88
3.1.6.1 Reactivos.	88
3.1.6.2 Material fungible.	92
3.1.6.3 Instrumentación.	94
3.2 MÉTODOS.	108
3.2.1 Toma de muestras biológicas.	108
3.2.2 Remisión de muestras al laboratorio.	
Cadena de custodia.	109
3.2.3 Tratamiento preliminar de las muestras.	109
3.2.4 Métodos de extracción en fase sólida y derivatización.	111
3.2.4.1 Métodos de extracción en fase sólida.	111
3.2.4.2 Procedimientos de derivatización de las muestras para análisis en cromatografía de gases - e. masas.	112
3.2.5 Métodos analíticos.	113
3.2.5.1 Plan analítico.	113
3.2.5.2 Métodos analíticos instrumentales para detección de drogas de abuso, excepto etanol.	116
3.2.5.2.1 Triage TM 8.	116
3.2.5.2.2 ETS-SYVA.	116
3.2.5.2.3 HPLC. REMEDI HS - BIO-RAD.	117
3.2.5.2.4 Cromatografía ed gases-e. masas.	118
3.2.5.3 Métodos analíticos instrumentales para detección de etanol.	118
3.2.5.3.1 ADX REA ETHANOL. Abbott.	119
3.2.5.3.2 Cromatografía de gases con inyector espaciador en cabeza.	119
3.2.5.4 Detección anticuerpos VIH1/2 Test Pack Abbott.	120
3.2.6 Criterios para interpretación de resultados analíticos.	121
3.2.7 Cumplimentación de la "Ficha de recogida de datos".	122
3.2.8 Método estadístico.	126
4. RESULTADOS ANALÍTICO-TOXICOLÓGICOS.	129
4.1 Prueba de ajuste a la normal.	129
4.2 Descripción de variables analíticas paramétricas.	130
4.3 Descripción de variables analíticas no paramétricas.	130

4.4 Comparación de medias independientes.	134
4.5 Prueba de Mann-Whitney.	134
4.6 Coeficiente de correlación de Spearman.	135
4.7 Coeficiente de correlación de Pearson.	136
5. DISCUSIÓN.	138
5.1 DISCUSIÓN SOBRE LOS DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN.	139
5.1.1 Sexo y edad.	139
5.1.2 Estado civil.	140
5.1.3 Data de la muerte.	140
5.2 DISCUSIÓN SOBRE DATOS DE ANTECEDENTES DE DEPENDENCIA.	141
5.2.1 Droga preferente.	141
5.2.2 Vía de administración.	141
5.2.3 Lugar de tratamiento deshabitador.	142
5.2.4 Antecedentes médicos.	143
5.3 DISCUSIÓN SOBRE DATOS MÉDICO-FORENSES.	144
5.3.1 Procedencia del cadáver.	144
5.3.2 Etiología médico-legal.	145
5.3.3 Causa fundamental de la muerte.	145
5.3.4 Causa inmediata de la muerte.	146
5.4 DISCUSIÓN SOBRE MÉTODOS ANALÍTICOS.	146
5.5 DISCUSIÓN SOBRE RESULTADOS ANALÍTICO - TOXICOLÓGICOS.	150
5.5.1 Sustancias detectadas en sangre.	150
5.5.2 Sustancias detectadas en orina.	158
5.5.3 Sustancias detectadas en jeringuilla.	162
5.5.4 Alcoholemia.	163
5.5.5 Anticuerpos frente a VIH1/2 en humor vítreo.	164
5.5.6 Correlaciones entre resultados toxicológicos.	164
5.5.6.1 Correlaciones en grupo "con jeringa".	164
5.5.6.2 Correlaciones en grupo "sin jeringa".	171
5.6 CONTRASTE DE RESULTADOS ANALÍTICOS ENTRE LOS GRUPOS "CON" Y "SIN JERINGA".	177
5.7 PERFIL ANALÍTICO EN CADÁVERES PRODUCIDO POR LA ADMINISTRACIÓN RECIENTE DE HEROÍNA.	180
CONSIDERACIONES FINALES.	182
6. CONCLUSIONES.	192
7. BIBLIOGRAFÍA.	194

1. MOTIVACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

1. MOTIVACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

1.1 MOTIVACIÓN.

La aproximación al fenómeno de la drogadicción y a su expresión social es obligadamente multidisciplinar^{1,2,3}, aunque los aspectos médicos cobran gran protagonismo.

La muerte súbita relacionada con el consumo de drogas de abuso constituye un problema médico-social de primera magnitud en los países occidentales^{4,5,6,7,8,9,10}. Este fenómeno es motivo de preocupación en la comunidad científica internacional, además de en la población general, por ello son numerosos los grupos de trabajo y organizaciones sanitarias que prestan atención a este problema.

De entre las diferentes perspectivas médicas que tiene el problema la que nos ocupa profesionalmente de forma cotidiana es la relacionada con los aspectos toxicológico-forenses. El ámbito de la toxicología forense no queda reducido al simple análisis, otras cuestiones esenciales en el éxito de esta pericia son : la toma de muestras en los lugares apropiados, cadena de custodia, tratamiento preliminar de las mismas, adecuación y calidad de las técnicas analíticas, interpretación de los resultados en el conjunto de evidencias de cada caso y valoración médico-forense.

Los cadáveres de drogodependientes con muerte súbita presentan, desde el punto de vista toxicológico-forense, numerosas incógnitas. En la necropsia los hallazgos macroscópicos son escasamente concluyentes¹¹ y el apoyo analítico-toxicológico se convierte habitualmente en el elemento fundamental de diagnóstico. La valoración médico-forense definitiva¹² ha de tener en cuenta los datos procedentes de la historia de dependencia y los informes clínicos de que se pudiera disponer.

El diagnóstico médico-legal de la muerte y los mecanismos fisiopatológicos incriminados son objeto de discusión permanente^{13,14}. Se han publicado distintos factores de riesgo en muertes por "sobredosis" ¹⁵ y elaborado hipótesis patogénicas de mecanismo anafiláctico para explicarla¹⁶.

La asociación de drogas de abuso encontrada en muestras cadavéricas se ha propuesto también como mecanismo letal por interacción¹⁷, destacando el papel del etanol^{18,19,20,21}.

La detección de las sustancias de abuso en los medios biológicos, las concentraciones que presentan, su distribución orgánica y correlaciones cinéticas, constituyen otra gran constelación de cuestiones que poseen enorme interés forense en la medida que pueden explicar mecanismos letales, cantidad administrada, riqueza de la droga usada, tiempo transcurrido desde el consumo a la muerte, etc.

Del conjunto de problemas toxicológico-forenses planteados interesan tres que son elementos básicos en la interpretación analítica cotidiana de los resultados de muertes por drogas de abuso, específicamente las relacionadas con la heroína :

1.- Conocer el tiempo transcurrido entre la última administración de heroína y el fallecimiento utilizando los hallazgos analítico-toxicológicos, y elaborar un patrón analítico que identifique la administración reciente.

En la práctica forense se plantea frecuentemente, tanto en el sujeto vivo como en el cadáver, la estimación del intervalo de tiempo entre la dosis última y el momento de la toma de muestra. Hay ocasiones en que este elemento temporal es esencial en la investigación policial y judicial.

Existen algunos parámetros cinéticos que nos aproximan analíticamente a esta estimación, así los cocientes entre concentraciones hemáticas de los glucurónidos de morfina (M3G y M6G) y morfina²², en otras ocasiones la presencia de monoacetilmorfina en sangre se valora como un intervalo de "algunas" horas²³ pero no se recoge en la bibliografía científica un perfil analítico-toxicológico definido asociable a la administración reciente de heroína en cadáveres judiciales.

Para resolver este problema, hemos diseñado el presente trabajo en el que comparamos los resultados analíticos de los cadáveres que han muerto mientras se administraban heroína y permanece la jeringuilla clavada en un trayecto venoso, con los de aquéllos otros que fallecen sin esta relación inmediata. Consideramos que los primeros tendrán un patrón analítico asociado a administración reciente que no poseerán los segundos.

2.- Repercusión de la data sobre los resultados toxicológicos en las muertes producidas por administración reciente de heroína.

Son en parte conocidos los fenómenos postmortales de redistribución de tóxicos^{23,24,25,26}, transformaciones bioquímicas^{27,28,29} e interacciones autolítico-putrefactivas^{30,31} de forma general.

Nos interesa el efecto que el tiempo postmortem produce en los hallazgos de muestras de cadáveres tras administración reciente de heroína, aspecto contemplado sólo de forma parcial en algunas publicaciones^{30,31}. Nos planteamos en este trabajo, una vez diseñado el grupo de administración reciente de heroína y establecidos sus resultados analíticos, conocer el efecto del tiempo postmortem sobre las concentraciones de sustancias en biofluidos utilizando cadáveres de distinta data.

3.- Asociación y/o interacción de drogas de abuso presentes en muestras biológicas de muertes relacionadas con el consumo de heroína como causa letal.

La interpretación de niveles en casos de muerte relacionada con administración de heroína es en ocasiones difícil, especialmente si consideramos que las concentraciones de opiáceos que con frecuencia se presentan en estos cadáveres son similares o inferiores a las detectadas habitualmente en consumidores vivos¹⁹. En situaciones excepcionales, así los "body packer", se observa una absorción masiva y podemos encontrar niveles de opiáceos suficientemente elevados³² como para explicar por sí solos la muerte, otras veces son las altas concentraciones en líquido cefalorraquídeo lo que puede justificar depresión respiratoria³³.

Frecuentemente se invoca la asociación interactiva de drogas de abuso como elemento desencadenante de la muerte en drogodependientes a heroína. De forma específica se incrimina al etanol como factor diferenciado en la precipitación de estas muertes^{17,19}, de suerte que pequeñas concentraciones de morfina en sangre se relacionan con moderadas alcoholemias^{20,18,34}. Se pueden considerar clásicos y pioneros los trabajos de Kreek^{35,36} sobre interacciones entre opiáceos y alcohol.

Nos proponemos aquí conocer las concentraciones de las sustancias asociadas a opiáceos y especialmente la presencia del etanol y su relación con las concentraciones de morfina.

1.2 HIPÓTESIS.

Podemos resumir la hipótesis de trabajo de la siguiente forma :

La heroína en contacto con la sangre se transforma con gran rapidez en monoacetilmorfina y ésta constituye el opiáceo marcador de la administración reciente de heroína por su corta vida media, las concentraciones hemática y urinaria podrán modificarse con los fenómenos postmortem. Los opiáceos y el alcohol ocasionan depresión neurológica y la asociación de ambos potencia sus efectos, por lo que es útil conocer la relación entre las concentraciones de estas sustancias, especialmente morfina y etanol, en biofluidos.

Desarrollamos los tres elementos que constituyen los pilares de la hipótesis enunciada :

1º.- La solución al primer problema que nos planteamos de elaborar un patrón analítico que identifique administración reciente de heroína en cadáveres, se concreta en :

Dado que la heroína en contacto con la sangre se transforma con gran rapidez en monoacetilmorfina y que ésta tiene una vida media corta pero suficiente para seguir su distribución en biofluidos, debemos encontrar en los cadáveres con administración reciente de heroína elevados niveles de monoacetilmorfina en sangre pero escasas concentraciones en orina por la rapidez de la muerte, en contraste con los cadáveres de administración no reciente.

2ª.- En relación con el segundo problema antes destacado cabe esperar que :

Dado que la monoacetilmorfina constituye el opiáceo marcador de la administración reciente de heroína por su corta vida media, esperamos que las variaciones ocasionadas por el incremento de la data le afecten de forma principal elevando sus niveles en biofluidos.

3ª.- La interacción del etanol y otras sustancias de abuso parecen tener un papel esencial en la fisiopatología de la muerte en estos supuestos, nos planteamos observar la relación inversa que otros autores refieren entre opiáceos y etanol. Así pues consideramos que :

Dado que el alcohol y los opiáceos ocasionan depresión neurológica, la asociación de ambos sugiere potenciación de efectos, por lo que debe existir relación probablemente inversa entre morfina y etanol a nivel de concentraciones.

1.3 OBJETIVOS.

Para poder verificar la hipótesis enunciada nos proponemos los siguientes objetivos :

1º.- Identificar y cuantificar drogas de abuso y psicofármacos presentes en sangre, orina y jeringuilla de los cadáveres incluidos en este estudio.

2º.- Analizar estadísticamente las concentraciones obtenidas en el grupo de cadáveres de administración reciente, respecto del opuesto.

3º.- Analizar las concentraciones de monoacetilmorfina existentes en los biofluidos del grupo de cadáveres de administración reciente, respecto del opuesto, comparando también los niveles con el contenido de las jeringuillas asociadas en cada caso.

4º.- Definir el perfil analítico para los cadáveres de administración reciente.

5º.- Estudiar el cociente de concentraciones sanguínea/urinaria de monoacetilmorfina en el grupo de administración reciente.

6º.- Analizar la relación existente entre las diferentes variables analíticas obtenidas y la data de la muerte.

7º.- Investigar la relación de la alcoholemia en todos los cadáveres y las concentraciones de morfina en biofluidos.

2. INTRODUCCIÓN.

La introducción que aquí se hace pretende delimitar los conceptos y aproximar al lector al complejo problema que se aborda como tema primordial : la reacción letal inmediata tras la administración de opiáceos. De forma resumida cabe decir que en el contenido de esta introducción se realiza un análisis del panorama de las drogas de abuso de forma general, incluyendo conceptos, descripción de los tipos y puesta al día de datos epidemiológicos.

Los opiáceos constituyen el grupo protagonista en el análisis de este trabajo y a ellos se dedica buena parte de este apartado, dicho protagonismo nos obliga a revisar aspectos históricos, epidemiológicos, legales y especialmente los temas relacionados con toxicocinética, toxicodinamia y procedimientos analíticos.

Consideramos indispensable describir la patología orgánica relacionada con el consumo de opiáceos pues a partir de ella se facilita el conocimiento fisiopatológico del mecanismo letal. Igualmente obligado resulta exponer los trabajos de distintos autores sobre los procesos letales asociados al consumo de opiáceos.

2.1 DROGAS DE ABUSO.

El concepto de "droga de abuso" se encuentra íntimamente unido a factores sociales, culturales, políticos, etc. Existen sustancias psicoestimulantes ampliamente aceptadas en algunas culturas mientras en otras constituyen "drogas ilegales" que son incluidas entre las denominadas "de abuso".

El origen de este, relativamente moderno, concepto de "drogas de abuso" hay que buscarlo en la actividad desarrollada por distintas organizaciones internacionales, destinada a elaborar disposiciones para controlar el uso de diferentes sustancias que en su momento se denominaron drogas toxicomanígenas.

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) y su predecesora la Sociedad de Naciones promovieron diversas reuniones entre las que hay que citar la celebrada en Nueva York (1961) que dió luz a la Convención Única de Estupefacientes y posteriormente la de Viena (1971) que realizó el Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas^{37,38}. La capacidad de convocatoria de la ONU sobre los Estados que pertenecen a la Organización concede gran relevancia a estas Convenciones ya que producen un efecto propagador y unificador de las disposiciones entre los países intervinientes.

Antes de las reuniones auspiciadas por la ONU hubieron otros esfuerzos de ámbito internacional, que a su modo, alertaron sobre los riesgos de las que posteriormente se denominaron sustancias psicotrópicas y estupefacientes. Entre ellos citar la "Shanghai Opium Commission" que bajo el mandato del presidente norteamericano Theodore Roosevelt en 1909 pretendió contener la adicción al opio, particularmente fumado³⁹.

Otro acontecimiento interesante de ámbito internacional para la delimitación de las hoy denominadas "drogas de abuso", que tuvo lugar en la primera década de nuestro siglo, fue la celebración del "Tratado de la Haya" cuyo origen se remonta a la Conferencia Internacional sobre el Opio (Diciembre de 1911) y su conclusión efectiva se produjo con la firma de la Convención de la Haya sobre el Opio en enero de 1912³⁹.

En esta Convención las distintas naciones participantes se comprometieron a elaborar disposiciones legislativas para el control de la producción de opiáceos, su manufactura en los productos farmacéuticos y su distribución dentro del país y en el extranjero.

La actividad desarrollada por numerosas organizaciones y asociaciones científicas ha contribuido de forma decisiva a delimitar progresivamente las sustancias motivo de abuso y los efectos a ellas ligados. Así, como consecuencia de los efectos psicoactivos de estas sustancias, han sido numerosos los colectivos de médicos psiquiatras preocupados por el fenómeno del consumo de drogas de abuso, ello ha conducido a valiosísimas aportaciones en la valoración de las conductas relacionadas con estos productos⁴⁰. Dado que la propia nomenclatura actualmente utilizada de "drogas de abuso" incluye un elemento comportamental *-de abuso-* en su enunciado, se entiende como especialmente necesaria la concreción de este aspecto para el conocimiento del fenómeno.

La descripción del concepto "*drogas de abuso*" habrá de asentarse en dos aspectos, de un lado delimitando lo que debemos entender por *drogas* según convenios internacionales surgidos en reuniones y tratados antes mencionados, de otro concretando el elemento psicodinámico de comportamiento *abusivo* en el consumo.

2.1.1 Concepto y criterios diagnósticos.

Cuando nos referimos a *drogas* en el contexto del consumo abusivo, estamos demoninando sustancias psicoactivas que producen alteraciones del comportamiento estrechamente relacionados con los fenómenos de *dependencia* y *tolerancia*. El elemento definitorio de psicoactividad viene a confundirse con el de psicotrópico, pues al fin la actividad sobre la esfera psíquica requiere tropismo o preferencia sobre ella.

El Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas de Naciones Unidas trata, en definitiva, sobre lo que hoy denominamos sustancias psicoactivas. La nominación estupefaciente (*facere stupor*) mantiene también estrecha relación con psicoactivo ya que la producción de estupor constituye una acción sobre lo psíquico, por lo que también la Convención Única de la Junta Internacional de Fiscalización de Estupefacientes con sus múltiples actualizaciones está actuando sobre *drogas psicoactivas*.

Se observa una tendencia cada vez más ampliamente aceptada en nuestro medio a sustituir *droga* por *sustancia*, son numerosas las publicaciones que surgen con referencias a "*sustancias de abuso*", incluso anglosajonas⁴¹ a pesar de tener la palabra "drug" un significado más concreto y delimitado que su traducción en castellano. El uso del vocablo *sustancia*, al ser más genérico, permite la inclusión de muy diferentes productos (drogas ilegales, medicamentos, productos tóxicos, ...) en el fenómeno de consumo abusivo.

En resumen, el conjunto de sustancias que aquí interesan son las que tienen capacidad de modificar la esfera psíquica con deterioro cognoscitivo o del estado de ánimo de las personas, aunque también pueden dar lugar a ansiedad, alucinaciones, ideas delirantes o crisis comiciales. El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, DSM-IV⁴⁰ de la American Psychiatric Association, se ocupa de los *trastornos relacionados con sustancias* y establece los criterios diagnósticos de abuso, dependencia, tolerancia, abstinencia e intoxicación que en adelante exponemos.

1.- Criterios para el diagnóstico de *abuso de sustancias* .

Lo que hace específico el abuso de sustancias es que su consumo tiene un patrón desadaptativo que se manifiesta en las relaciones con el entorno en forma de conflictos a pesar de los cuales el sujeto mantiene el consumo continuado de la sustancia.

Se pueden resumir los criterios diagnósticos como sigue:

A. Patrón desadaptativo de consumo de sustancias que conlleva deterioro o malestar clínicamente significativos, expresado por uno (o más) de los ítems siguientes durante un periodo de 12 meses :

(1) Consumo recurrente de sustancias, que da lugar a incumplimiento de obligaciones laborales, escolares o domésticas.

(2) Consumo recurrente de la sustancia en situaciones en las que hacerlo es físicamente peligroso.

(3) Problemas legales repetidos relacionados con la sustancia.

(4) Consumo continuado de la sustancia, a pesar de tener problemas sociales continuos o recurrentes o problemas interpersonales causados o exacerbados por los efectos de la sustancia (discusiones, violencia verbal o física,...).

B. Los síntomas no han cumplido nunca los criterios para la dependencia de sustancias de esta clase de sustancia.

2.- Criterios diagnósticos de *dependencia de sustancias* :

La dependencia de sustancias es una situación clínica con síntomas comportamentales, cognoscitivos y fisiológicos por consumo mantenido, a pesar de los problemas asociados al mismo. El estado de *dependencia* es, como en la situación de *abuso*, un patrón de consumo desadaptativo aunque aquí con profunda afectación física y psíquica. Podría decirse que la dependencia es una forma de abuso de sustancias agravada.

Los criterios que definen la dependencia son:

Patrón desadaptativo de consumo de la sustancia que conlleva un deterioro o malestar clínicamente significativos, expresado por tres (o más) de los ítems siguientes en algún momento de un periodo continuado de 12 meses :

(1) Tolerancia, definida por cualquiera de los siguientes ítems:

- Necesidad de cantidades marcadamente crecientes de la sustancia para conseguir la intoxicación o el efecto deseado.

- El efecto de las mismas cantidades de sustancia disminuye claramente con su consumo continuado.

(2) Abstinencia, definida por cualquiera de los siguientes ítems:

- El síndrome de abstinencia característico para la sustancia.
- Se toma la misma sustancia (o una muy parecida) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia.

(3) La sustancia es tomada con frecuencia en cantidades mayores o durante un periodo más largo de lo que inicialmente se pretendía.

(4) Existe un deseo persistente o esfuerzos infructuosos de controlar o interrumpir el consumo de la sustancia.

(5) Se emplea mucho tiempo en actividades relacionadas con la obtención de la sustancia, en el consumo de la sustancia, o en la recuperación de los efectos de la sustancia.

(6) Reducción de importantes actividades sociales, laborales o recreativas debido al consumo de la sustancia.

(7) Se continúa tomando la sustancia a pesar de tener conciencia de problemas psicológicos o físicos recidivantes o persistentes, que parecen causados o exacerbados por el consumo de la misma.

Se incluyen junto a los criterios vistos la codificación en caso de remisión de la dependencia, que se expresa en siete categorías. También se ha de especificar si existe o no dependencia fisiológica, según los signos de tolerancia o abstinencia.

2.1.2 Tipos y clasificación.

Ya se ha destacado que tanto las sustancias consideradas internacionalmente *estupefacientes* como las *psicotrópicas* se encuentran englobadas en el concepto de *psicoactivas* que caracteriza las sustancias de abuso.

Por tanto una forma de exponer los tipos de sustancias psicoactivas es acudiendo a las listas que sobre estupefacientes se han elaborado por las distintas Convenciones (años 1925, 1931, C. Única 1961) y Protocolos (años 1948, 1953 y 1972 que modifica la Convención Única) y que se ubican en el Centro Internacional de Viena³⁸.

En la última Convención se establecieron cuatro listas, la Lista I incluye 103 sustancias -además de sus isómeros, ésteres, éteres y las sales de los mismos-, entre las que se pueden destacar : cocaína, heroína, metadona, morfina, opio, oxicodona. La Lista II enumera 10 sustancias -incluyendo también isómeros y sales-, entre ellas están : codeína, dextropropoxifeno, dihidrocodeína, etilmorfina, norcodeína. En la Lista III se contemplan los preparados de 13 sustancias, algunas incluidas en la Lista II y otras en la I, tales como : cocaína, difenoxina y difenoxilato; con limitación de porcentajes y cantidades de éstas en la composición de los preparados. Se relacionan en la Lista IV 17 sustancias algunas contempladas anteriormente.

A su vez en el Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas de 1971 se elaboraron cuatro listas, la I contiene entre otras : LSD-25, MDMA, tetrahidrocannabinol (isómeros y variantes estereoquímicas), psilocibina. La Lista II está compuesta por 12 elementos de gran interés como sustancias de abuso, así: anfetamina, fenciclidina, metacualona, metanfetamina, metilfenidato, secobarbital. Algunas de las sustancias de la Lista III están relacionadas con situaciones de dependencia al utilizarse como sustitutivos (buprenorfina), o como tranquilizantes en síndrome de abstinencia (flunitrazepan), otras que se incluyen son los barbitúricos: amobarbital, butalbital, pentobarbital. Un amplio grupo de benzodiacepinas se contienen en la Lista IV entre 59 sustancias, también algunos barbitúricos.

Las revisiones periódicas de estas listas sometidas a fiscalización internacional hace posible la inclusión de nuevos productos de síntesis y el traslado de sustancias de una lista a otra en función de los nuevos datos de consumo. A ello obedece la transferencia del flunitrazepan desde la Lista IV a la III otorgando así mayor control de fiscalización.

Este cambio tuvo lugar por decisión de la Comisión de Estupefacientes el 22 de marzo de 1995, notificada por el Secretario General el 24 de mayo de 1995 y plenamente en vigor desde el 19 de noviembre de 1995. La inclusión de buprenorfina y brotizolam, entre otras, se produjo de forma similar.

Aunque muchas de las sustancias incluídas en las listas analizadas anteriormente tienen un claro interés médico-legal como drogas de abuso, el criterio de clasificación por inclusión en determinada lista es el de su fiscalización en el ámbito internacional; no están distribuídas de acuerdo a sus propiedades psicoactivas, ni por grupos químicos, ni por sus efectos adictivos. Por tanto, éstos últimos aspectos que son los de mayor interés en el trabajo que nos ocupa, no podremos analizarlos considerando la clasificación según las mencionadas listas de estupefacientes y psicotrópicos, sino acudiendo a otras que atiendan criterios médicos.

Antes de pasar a describir otras formas de ordenar las sustancias psicoactivas hay que destacar el enorme interés que en el ámbito penal tienen las listas de estupefacientes de la Convención Única (con sus modificaciones) y la del Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas.

Nuestro Código Penal⁴² tiene varias referencias a *“bebidas alcohólicas, drogas tóxicas, estupefacientes, sustancias psicotrópicas u otras que produzcan efectos análogos”*. El artículo 20 punto 2º, que está dentro *“De las causas que eximen de la responsabilidad criminal”* contiene la expresión arriba destacada, también los artículos 368 y 369 *“De los delitos contra la salud pública”* mencionan *“...drogas tóxicas, estupefacientes o sustancias psicotrópicas...”*.

La importancia de *“los delitos contra la seguridad del tráfico”* en las sociedades modernas ha originado elaborados tipos penales en los que se contempla la conducción de un vehículo a motor *“bajo la influencia de drogas tóxicas, estupefacientes, sustancias psicotrópicas o de bebidas alcohólicas”*. En nuestro Código el artículo 379 tipifica este aspecto, en ocasiones, de difícil verificación médico-forense.

A su vez, el artículo 371 del Código Penal menciona la Convención de las Naciones Unidas hecha en Viena el 20 de diciembre de 1988 sobre tráfico ilícito de estupefacientes y sustancias psicotrópicas. Este artículo se acoge a las listas de la mencionada Convención para tipificar como punibles los actos de fabricación, transporte, distribución y comercio de productos en ellas recogidos. Esta Convención fue ratificada por España el 30 de julio de 1990, en ella se consideran sustancias psicotrópicas aquéllas incluidas en las listas I, II, III o IV del Convenio Único sobre Sustancias Psicotrópicas de 1971.

También nuestro Derecho positivo recoge el Convenio Único de Estupefacientes de las Naciones Unidas de 1961 (modificado por el Protocolo de Ginebra de 25 de marzo de 1972) en la Ley 17/1967 en la que se consideran estupefacientes las sustancias incluidas en las listas I y II del Convenio. Desde el punto de vista penal, a los efectos del artículo 368 del Código, las sustancias relacionadas en las listas I, II y IV del Convenio Único de 1961 son consideradas estupefacientes y así se confirma por la jurisprudencia del Tribunal Supremo en numerosas sentencias.

Desde un punto de vista médico interesa especialmente clasificar las sustancias de abuso según un criterio toxodinámico, es decir por su mecanismo de acción. En este sentido Delay y Deniker (1961) clasificaban los psicoactivos en psicolépticos, psicoanalépticos y psicodislépticos; cuyas acciones sobre la esfera psíquica son respectivamente depresora, estimulante y perturbadora o distorsionadora³⁸.

Se pueden mencionar dentro de los tipos indicados algunos ejemplos:

- Psicolépticos
 - . Neurolépticos (fármacos antipsicóticos)
 - . Tranquilizantes (tipo benzodiacepinas)
 - . Hipnóticos (tipo barbitúricos)
- Psicoanalépticos
 - . Estimulantes del humor (antidepresivos)
 - . Estimulantes de los estados de vigilia (anfetaminas)
 - . Estimulantes generales (cocaína, cafeína, khat)

- Psicodislépticos
 - . Narcóticos (opíáceos)
 - . Alucinógenos (LSD, mescalina, psilocibina)
 - . Solventes, aerosoles.

Esta clasificación es demasiado genérica y no se adapta a los nuevos conocimientos sobre mecanismos fisiopatológicos, ni a las peculiaridades del consumo adictivo de las sustancias.

La mayoría de los autores y tratadistas actuales que se dedican al estudio de las sustancias de consumo abusivo no se ocupan tanto de aspectos clasificatorios cuanto del propio concepto, ya que éste permite concretar las sustancias a incluir y tratar. La exposición y desarrollo médico-toxicológico de las sustancias de abuso, se hace en muchos tratados de espaldas a antiguos modelos clasificatorios, prefiriéndose una organización de los contenidos más acordes con la importancia médico-social de los productos. Así, no es raro encontrar la exposición de la cocaína de forma independiente al resto de estimulantes, o de la heroína respecto a otros narcóticos.

Teniendo en cuenta esta actitud más flexible y apegada a la realidad del fenómeno de las drogas, parece de interés relacionar y describir los productos considerados en nuestro tiempo *sustancias de consumo abusivo*.

Desde la perspectiva de la *patología de las drogas de abuso* y con un contenido dirigido a la valoración de los problemas médico-legales, cómo no podría ser de otra forma al ser su autor "Assistant Medical Examiner", Steven B. Karch¹² describe entre las drogas de abuso:

- Cocaína.
- Otros estimulantes naturales: absenta, cafeína, khat y efedrina.
- Estimulantes sintéticos: anfetamina y metanfetamina, fenilpropanolamina y fenfluramina.

- Alucinógenos: derivados de fenetilamina (mescalina, otros derivados de fenetilamina en C-2), sustituidos de anfetaminas (TMA, DOM, PMA, DOB, Nexus, MDA, MDMA, MDEA, 4-MAX, MDMA homólogos, "KAT"), fenilalquilaminas (MDT, bufoterina, psilocibina, harmalina, alfa-metiltryptaminas, dietilamina del ácido lisérgico) y otros agentes que incluyen fenciclidina y dextrometorfan.

- Narcóticos: morfina, heroína, codeína, metadona, propoxifeno, fentanilo y otros sintéticos, otros opiáceos (hidromorfona, hidrocodona, oxicodona, oximorfona, meperidina y pentazocina).

- Esteroides anabolizantes.

- Solventes orgánicos y aerosoles.

Como se observa, en la clasificación expuesta hay incluidas sustancias de escasa incidencia en nuestro país, pero ampliamente difundidas en los Estados Unidos de Norteamérica. Por otra parte, esta clasificación tiene el mérito de reunir las sustancias en grupos de efectos psicoactivos (estimulantes, narcóticos, alucinógenos, etc) y de integrar aquellos productos de consumo abusivo no incluíbles químicamente entre los anteriores por su peculiar actuación (anabolizantes, solventes).

Adolece la clasificación de Karch de ausencias significativas, no contempla los clásicos depresores del sistema nervioso como barbitúricos, o los tranquilizantes menores del tipo benzodiazepinas, que constituyen un grupo de psicofármacos de amplio uso y abuso en Europa.

Siguiendo en la línea de los autores anglosajones, Gisbert⁴³ clasifica los siguientes grupos genéricos las sustancias productoras de abuso:

- Alcohol.
- Opiáceos.
- Sedantes generales (barbitúricos, diazepam, etc).
- Estimulantes (cocaína, anfetaminas)
- Cannabis sativa y sus derivados.
- Hipnóticos y ansiolíticos.
- Alucinógenos.
- Drogas atropínicas.
- Inhalantes.
- Tabaco.

Los amplios grupos que ofrece esta clasificación facilita la inclusión de las sustancias de abuso. Llama la atención el grupo denominado *drogas atropínicas*, actualmente sólo se entiende el uso de anticolinérgicos como potenciadores de otras sustancias de abuso generalmente por politoxicómanos, raramente se abusa específica y exclusivamente de *atropínicos*.

Desde un punto de vista estrictamente médico, el análisis y descripción que hace M.J. Ellenhorn⁴⁴ de las drogas de abuso tiene interés por la distribución que hace de ellas con fines diagnóstico y terapéutico. Según este autor, las sustancias de abuso pueden ser agrupadas en:

- Estimulantes del sistema nervioso central. Este grupo estaría representado por cocaína, anfetamina, dextroanfetamina, metilfenidato, MDMA, bromo-DMA y otros productos similares a anfetamina utilizados para combatir la obesidad.

- Opioides. Destacando entre ellos heroína, morfina, codeína, meperidina, metadona, hidromorfona, opio, pentazocina, propoxifeno, fentanilo, sufentanilo.

- Depresores del sistema nervioso central. Agrupa a barbitúricos, benzodiacepinas, glutetimida, meprobamato, metacualona, etclorovinol, hidrato de cloral, metiprilon, paraldehído.

- Alucinógenos. Es el grupo más restringido e incluye dietilamida del ácido d-lisérgico (LSD), psilocibina, mescalina y fenciclidina.

- Grupo de Cannabis. Es un grupo específico, frente a las denominaciones genéricas de los anteriores apartados, en éste se concreta un grupo homogéneo de productos con composición química integrada. Se incluyen entre otros marihuana ("marijuana"), hashish, THC (Delta-9-tetrahidrocannabinol), aceite de hashish.

- Agentes anticolinérgicos. Como en la clasificación de Gisbert, también aquí se tienen en cuenta este grupo de sustancias -capaces de originar cuadros de abuso por sí mismas-. Se contemplan: atropina, belladona, escopolamina, prociclidina y propantelina, entre otros anticolinérgicos.

Este panorama que ofrece Hellenhorn de las "*drugs of abuse*" con finalidad clínica adolece a nuestro juicio de un gran ausente entre los depresores del sistema nervioso central, ya que aunque los alcoholes -y específicamente el etanol- es tratado en su obra de forma exhaustiva en otro lugar distinto de las drogas de abuso, no figura en la tabla-clasificación que mencionamos. A diferencia de lo que ocurre con el etanol, los psicofármacos que son descritos fuera de las drogas de abuso son incluidos en la clasificación mencionada, así barbitúricos, benzodiacepinas y otros.

Algunos tratados se ocupan de las drogas de abuso con la intención de analizar este fenómeno de forma multidisciplinar. En ellos se conjugan la vertiente estrictamente médico-biológica con la psiquiátrica, sociológica e incluso jurídica. Se entiende que abordar el fenómeno de abuso a sustancias desde puntos de vista tan diversos dificulta la elaboración de criterios clasificatorios que puedan satisfacer a todos. Así encontramos una relación de productos, considerados drogas de abuso, sin que se pretenda especial homogeneidad en su presentación. En este sentido J.H. Lowinson, P. Ruiz, R.B. Millman y J.G. Langrod⁴⁵ exponen: alcohol, opiáceos, cocaína y crack, marihuana, anfetaminas y otros estimulantes, sedantes-hipnóticos y tricíclicos, alucinógenos, fenciclidina, inhalantes, drogas de diseño, MDMA, nicotina, cafeína, esteroides-androgénicos anabolizantes.

2.2 OPIÁCEOS.

2.2.1 Concepto.

Como ya quedó expuesto al principio de esta introducción, los opiáceos son el objeto de este trabajo que trata de profundizar en el rápido mecanismo letal que ocasionan tras su administración.

Se denominan opiáceos los productos obtenidos a partir del opio, secreción ésta que se origina al incindir las cápsulas de *Papaver somniferum*. En la familia *papaveraceae* existen distintos géneros y especies y aunque la más común "amapola del opio" es la *somniferum* también la *Papaver setigerum* contiene abundante cantidad de morfina.

Se han obtenido varios híbridos y en la actualidad se sigue realizando manipulación genética con la finalidad de conseguir plantas de distintas características y cultivos⁴⁶.

Esta planta crece especialmente en lugares de clima cálido y áreas templadas. Tras la siembra necesita de dos a tres meses para alcanzar su desarrollo completo, pudiendo tener hasta 180 cm de altura. El momento más apropiado para recolectar el opio tiene lugar tras la caída de los pétalos, en las dos semanas siguientes, entonces se encuentra madura la cápsula. Una planta puede tener dos, tres o más cápsulas.

La obtención el opio requiere practicar cuidadosamente las incisiones en la cápsula, evitando que sean profundas para permitir la salida al exterior del jugo. Se deja en reposo unas 12 horas para que que se produzca la secreción y que durante este tiempo "tome forma" - es decir solidifique - así su recolección es más cómoda y completa. Se utiliza una especie de fina cuchilla acoplada a un recipiente para rascar el opio adherido a la cápsula.

El rendimiento, en peso de opio, de las plantaciones de *Papaver somniferum* es variable según los cuidados del cultivo (fertilizantes, riegos, etc), el tipo de suelo, la climatología y la procedencia. Los cultivos de la India parecen ser los más rentables, los países mediterráneos y específicamente Turquía obtienen un rendimiento de unos 10 kg de opio por hectárea.

En la composición del opio se pueden diferenciar de una parte los alcaloides que son los productos farmacológica y toxicológicamente activos, y de otra los elementos constitutivos no activos. Han sido identificados 20 alcaloides, pero los que tienen mayor significación clínico-toxicológica son : morfina (entre 8 y 19% del opio seco), codeína (entre 1,25 y 3,40% del opio seco), tebaína, papaverina y noscapina. Existen otros alcaloides como: oripavina, narceína, criptopina y salutaridina; que a pesar de sus escasas concentraciones y la dificultad de su identificación analítica son separados cromatográficamente en pocos minutos (menos de 10 minutos) usando modernas técnicas de cromatografía capilar⁴⁷.

Las concentraciones y proporción de los cinco alcaloides más importantes ya enumerados, permiten distinguir el origen del opio. El procedente de India tiene una mayor riqueza de cada alcaloide - codeína, morfina, tebaína, papaverina, narcotina - que el originario de Holanda; además es más rico proporcionalmente en narcotina que el holandés⁴⁸.

Desde el punto de vista policial tiene interés conocer la procedencia de los alijos incautados de opio, y sus manipulaciones, para lo cual la determinación de su composición puede ayudar⁴⁹. La investigación cuantitativa de los alcaloides en opio se efectúa en la actualidad por técnica de cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas, también se han desarrollado otros procedimientos de alta rentabilidad como la electroforesis capilar no-acuosa que permite una alta selectividad en la separación de estos productos⁵⁰.

A partir de estos compuestos naturales alcaloideos se han obtenido cientos de derivados semisintéticos, algunos con una gran actividad si los comparamos con la morfina, así se considera que la etorfina tiene 1000 veces más actividad y su derivado dihidroetorfina todavía es un analgésico más potente con producción de escasa dependencia^{51,52}.

2.2.2 Clasificación.

La mayoría de las clasificaciones de los opiáceos se establecen según el criterio de su procedencia.

Siguiendo a Viccellio⁵³ se pueden diferenciar los opioides en los grupos que se enumeran:

1. Derivados naturales del opio: codeína (metilmorfina), morfina, opio (seco, tintura), paregórico (tintura de opio alcanforada).
2. Agentes semisintéticos: buprenorfina, butorfanol, dextrometorfan, drocode (dihidrocodeína), heroína (diacetilmorfina), hidrocodona, hidromorfona, levorfanol, nalbufina, oxicodona, oximorfona.

3. Agentes sintéticos:

3.1 meperidina y relacionados: alfentanilo, alfaprodina, difenoxilato, fentanilo, loperamida, meperidina (petidina), sufentanilo.

3.2 metadona y relacionados: dextromoramida, dipipanona, metadona, propoxifeno.

3.3 otros: pentazocina.

Otras clasificaciones introducen un criterio temporal al agrupar los opiáceos, Ellenhorn⁴⁴ distingue entre los antiguos y los nuevos de la siguiente forma:

1. Opiáceos antiguos :

1.1 Opio natural: opio, tintura de opio, paregórico (tintura alcanforada de opio), morfina y codeína.

1.2 Derivados sintéticos:

1.2.1 Morfina y congéneres: heroína, hidromorfona, oximorfona, hidrocodona, oxicodona.

1.2.2 Meperidina y congéneres: meperidina, anileridina, difenoxilato, fentanilo y derivados, loperamida y alfaprodina.

1.2.3 Otros: pentazocina, butorfanol, nalbufina, naloxona, naltrexona, buprenorfina.

2. Opiáceos nuevos: dextromoramida, dezocina, ketobemidona, meptazinol, nalmeveno, pentamorfona, tilidina y tramadol.

Como puede observarse en las clasificaciones expuestas, el origen -natural o sintético (incluido el semisintético)-, constituye el elemento diferenciador básico para los opiáceos.

Tomando como base las clasificaciones expuestas vamos a describir someramente algunos de los opiáceos recogidos en ellas y que poseen relevancia clínica y epidemiológica en nuestro medio.

2.2.3 Descripción general de algunos opiáceos. Elementos de toxocinética.

En esta descripción general de los opiáceos de mayor interés para el trabajo que nos ocupa vamos a incluir aspectos toxicocinéticos, especialmente los relacionados con las vías de entrada, distribución tisular y eliminación; también se abordará su detectabilidad analítica.

Se excluye de este apartado el estudio de la heroína, dado que al constituir el elemento esencial de este trabajo, se reserva un epígrafe específico más adelante en el que se detallarán con mayor amplitud los aspectos toxicológicos de la misma.

2.2.3.1 Morfina.

Es un alcaloide, derivado fenantrénico, del opio. Aislada a partir del opio en 1805 por Setürner, fue posteriormente establecida su estructura química por Sir Robert Richardson en 1927 y su síntesis tuvo lugar en 1952.

Las distintas vías de entrada originan una cinética distinta. La absorción por vía subcutánea e intramuscular es casi tan rápida como la administración intravenosa, siendo los niveles plasmáticos comparables a los detectados tras administración endovenosa. La rápida absorción por inyección subcutánea explica la considerable popularidad de esta forma de administración entre los consumidores crónicos de tiempos pasados. La absorción tras ingesta ocurre en el intestino delgado con pico plasmático entre los 30 y 90 minutos, la concentración alcanzada es menor que la obtenida tras administración parenteral y ello en gran medida a causa de su paso por el hígado que reduce significativamente su biodisponibilidad⁵⁴.

Los niveles plasmáticos alcanzados tras la administración rectal son algo más elevados que los obtenidos por ingestión, posiblemente porque se reduce su biotransformación al disminuir significativamente el fenómeno de "primer-paso" por el hígado. La morfina se absorbe poco por vía intranasal. La biodisponibilidad de la morfina fumada es variable y los niveles sanguíneos disminuyen rápidamente (en 30 minutos) con una vida media comparable a la observada tras administración intravenosa.

La eliminación de la morfina se describe como un proceso bifásico, en una primera fase -que dura unos pocos minutos- la morfina es rápidamente distribuida a los tejidos, en la segunda fase la morfina es rápidamente transformada en su principal metabolito -morfina-3-glucurónido (M3G) y algo más lentamente (unas dos horas) a pequeñas cantidades del producto farmacológicamente activo denominado morfina-6-glucurónido (M6G). Ambos metabolitos tienen la propiedad de ser altamente lipofílicos lo que les hace atravesar la barrera hematoencefálica con gran facilidad. El proceso detoxificador de glucuronoconjugación no es en este caso efectivo ya que el metabolito M6G presenta una mayor afinidad por los receptores μ que la propia morfina, esto explica que sea farmacológicamente más potente el metabolito que su precursor. La cantidad relativa de cada uno de los glucuronoconjugados -M3G y M6G- en relación con la concentración sérica de morfina permite hacer estimaciones sobre el tiempo transcurrido entre la administración y la toma de la muestra, esta valoración puede tener un gran valor en el ámbito forense.

También a partir de morfina se produce normorfina. Este metabolito se origina en gran cantidad tras la administración oral, mientras que es menor si se utiliza la vía parenteral. Se conoce el efecto psicoactivo y neurotóxico de normorfina.

La distribución tisular de morfina es muy rápida, su volumen de distribución es de 3 l/kg. La unión de morfina con las proteínas plasmáticas puede alterarse en diversos cuadros (hepatopatías, nefropatías, enfermedades tumorales, etc) originando un incremento de la fracción libre plasmática. Se encuentran concentraciones elevadas en pulmón, riñón, hígado, bazo y músculo.

El reparto orgánico está relacionado con el flujo sanguíneo, de forma que los tejidos mejor irrigados poseen un mayor aflujo de morfina. La morfina y sus metabolitos atraviesan rápidamente las barreras hematoencefálica y placentaria.

La eliminación urinaria de morfina es mayoritaria en forma de glucurónidos -se estima que un 70% de la dosis administrada -, representando M3G el 57% y M6G el 10%. Sólo una pequeña cantidad de morfina (menos del 10% de lo administrado) se elimina de forma libre -no metabolizada- en la orina.

La eliminación de los glucurónidos de morfina disminuye en situaciones de insuficiencia renal con la consiguiente retención de metabolitos activos (M6G), mientras que no se afecta la eliminación urinaria de la forma no metabolizada.

Detectar morfina y sus metabolitos en orina es posible durante las 24 horas siguientes a la administración ya que durante este tiempo se excreta el 85% de la dosis administrada, con técnicas de alta sensibilidad (cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas) se alarga el tiempo de detección. Los consumidores crónicos, en los que la circulación enterohepática tiene especial significación, la detección urinaria se puede realizar tras varios días después de la administración usando los niveles de sensibilidad (cutoffs) establecidos por el NIDA.

Existen modificaciones raciales sobre el metabolismo de morfina que afectan los parámetros temporales de detectabilidad arriba indicados, así entre los orientales (chinos) se produce una mayor fracción de glucurónidos y de forma más rápida de la que originan los caucásicos.

La detectabilidad de morfina y sus metabolitos se relaciona de forma especialmente directa con la antigüedad del consumo de ésta o de su precursor más habitual, la heroína, y con la dosis administrada. Cuanto mayor es la cantidad administrada por día y más antiguo consumo más se prolonga en el tiempo la detectabilidad.

2.2.3.2 Codeína.

Es uno de los alcaloides naturales que se encuentran en el opio. La riqueza en codeína depende del lugar dónde se cultiva la planta, en general se encuentra entre 0,7% y 2,7%.

La codeína fue aislada por Robiquet en el año 1832 a partir del opio. Forma parte de presentaciones farmacológicas por sus efectos antitusígenos y analgésicos, al originar morfina en una de sus rutas metabólicas (o-demetilación). Cada año se utilizan varias toneladas de este producto con fines farmacológicos y la mayor parte tiene un origen semisintético por metilación de morfina.

En el hombre, la mayor parte de la codeína administrada (en torno al 80 %) sufre glucuronoconjugación y origina codeína-6-glucurónido que es un metabolito inactivo. Pequeñas cantidades de este alcaloide (alrededor de 2 %) sufren n-demetilación y transforman codeína en norcodeína que a su vez puede ser glucuronoconjugada a norcodeína-6-glucurónido y eliminada de esta forma, o bien pasar a formar normorfina. La vía de o-demetilación⁵⁵, codeína se transforma en morfina que a su vez puede glucuronoconjugarse a morfina-3-glucurónido y morfina-6-glucurónido, también morfina puede evolucionar metabólicamente a normorfina y ésta ser glucuronoconjugada en posición 3 y 6 originando normorfina-3-glucurónido y normorfina-6-glucurónido²⁵.

Todas las formas metabólicas de tipo glucurónido son eliminadas por la orina, la mayor parte (algo menos del 90 % de la dosis dada) se encuentra en forma de codeína-6-glucurónido. Hay que destacar la importancia de los metabolitos de codeína en el sentido de que tres de ellos presentan conocida psicoactividad : morfina, normorfina y morfina-6-glucurónido.

La vida media plasmática de codeína se establece por numerosos autores en torno a las 3 horas, tras administración oral en voluntarios sanos se ha calculado entre 2,4 y 3,2 horas. En trabajos que usan la vía intramuscular⁵⁶ la vida media calculada es de 3,32 horas, estimando que la biodisponibilidad oral respecto a la intramuscular es del 53%.

El pico plasmático tras ingestión de una dosis única de codeína (entre 50 y 65 mg) se obtiene alrededor de una hora después - 0,75 y 1 hora - con niveles que se encuentran en el rango de 102 a 140 ng/ml, mientras que después de la administración intramuscular de una dosis similar se eleva el pico plasmático hasta los niveles de entre 194 y 340 ng/ml que se alcanzan entre las 0,25 y 1 hora. Se han realizado estudios farmacocinéticos con voluntarios en los que se determinan entre otros parámetros la biodisponibilidad comparando formas de presentación de codeína de liberación rápida (fosfato) y lenta (Contin)⁵⁷, así se establece el retraso de los picos plasmáticos en las formas "lentas" y su duración mantenida, lo que sugiere un manejo clínico más cómodo en el tratamiento del dolor.

El metabolismo de codeína, la capacidad de un sujeto para formar norcodeína, morfina y morfina-6-glucurónido, se puede predecir por el polimorfismo genético denominado debrisoquina/asparteína. Tras la administración exógena, la codeína se biotransforma (o-demetilación) en morfina este paso es catalizado por CYP2D6 que presenta polimorfismo genético (debrisoquina/asparteína) que se expresa por dos fenotipos : metabolizador pobre y metabolizador amplio. Los metabolizadores pobres sólo originan pequeñas cantidades de morfina, mientras que los "amplios" metabolizadores tienen amplia o-demetilación de codeína para formar morfina y sus conjugados. No se altera en los dos fenotipos de CYP2D6 la biosíntesis de morfina en humanos^{58,59}.

El polimorfismo genético que afecta al metabolismo de codeína tiene expresión fenotípica distinta según las etnias. Las poblaciones caucásica y del lejano oriente son llamativamente diferentes con respecto al polimorfismo "hidroxilación debrisoquina/asparteína". El número de metabolizadores "pobres" entre los caucásicos es menor (10% de los caucásicos) que entre los chinos y japoneses. Los estudios genéticos sobre CYP2D6 y sus variaciones alélicas permiten explicar las diferencias interétnicas en el metabolismo de los fármacos afectados por el polimorfismo indicado⁶⁰.

Desde la perspectiva médico-forense tiene interés conocer la expresión fenotípica ya que en los metabolizadores o hidroxiladores "pobres" (también llamados no hidroxiladores) presentarán ausencia de morfina detectable en su sangre tras la administración de codeína, mientras que cuando se detecte se podrá pensar en una administración directa de morfina o heroína.

La vida media de eliminación de codeína y su principal metabolito codeína-6-glucurónido está en torno a las tres horas y su detección en sangre tiene lugar entre las 12 y 24 horas. La detección de codeína en la orina se mantiene de forma más prolongada que la de morfina.

2.2.3.3 Metadona.

Metadona es un compuesto narcótico-analgésico sintético desarrollado en Alemania al final de la 2ª guerra mundial. Tras la guerra fue estudiado en Lexington y se le encontraron efectos similares a los de la morfina pero de duración más prolongada⁶¹. Estos estudios condujeron al uso de metadona para analgesia y para el tratamiento de la abstinencia en adictos a heroína.

En el año 1965 se inició el uso terapéutico de metadona como fármaco de mantenimiento para adictos a heroína, en 1972 se aprueba el uso de clorhidrato de metadona para el tratamiento de la adicción a narcóticos por la Food and Drug Administration (FDA). El protocolo para el uso de metadona en el tratamiento de mantenimiento y detoxificación de adictos a narcóticos se estableció en marzo de 1989 por el National Institute on Drugs Abuse (NIDA)⁴⁴.

Estructuralmente la metadona es difenilpropanolamina y tiene parentesco químico con el propoxifeno. A pesar de su diferencia química, metadona y morfina tienen efectos similares y parecida potencia analgésica (la capacidad analgésica de 7,5 a 10 mg de metadona es equivalente a 10 mg de morfina)⁶².

Este producto se absorbe muy bien por el tracto gastrointestinal, también se absorbe tras inyección subcutánea e intramuscular. A los 30 minutos de su ingesta es posible detectarla en plasma. Se distribuye por los tejidos: pulmón, hígado, riñón, bazo. El volumen de distribución se calcula en torno a 5 l/kg, y se une a proteínas en un 85 %. La vida media tras la administración de una dosis terapéutica aislada es de unas 15 horas (10 - 18 horas), si se trata de un paciente en tratamiento de mantenimiento con dosis entre 100 y 120 mg/día la vida media se eleva por encima de 25 horas, a causa del acúmulo orgánico por la administración repetida. Recientes trabajos sobre distintos aspectos de la farmacocinética de metadona⁶³ establecen una vida media de 33 a 46 horas en voluntarios sanos, siendo más prolongada en los dependientes a opiáceos.

Existe una buena relación entre la dosis de metadona administrada y los niveles plasmáticos encontrados. Incluso se ha llegado a determinar una correlación casi lineal ($r = 0,89$) por Wolff y cols.⁶⁴, de forma que en una población de 31 adictos encuentran que la concentración plasmática se eleva 0,263 mg/l por cada miligramo de metadona consumido por kilogramo de peso corporal.

Metadona se metaboliza en el hígado originando dos productos inactivos : 2-etilideno-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina (EDDP) y 2-etil-5-metil-3,3-difenilpirrolidina (MPD) que son eliminados por la orina en forma de glucurónidos, raramente se encuentran en plasma. La eliminación de metadona se realiza fundamentalmente por el riñón, en donde se produce su reabsorción tubular dependiendo del pH urinario, siendo más fácilmente eliminable en medio ácido⁶². La asociación de metadona con alcohol y con cocaína facilita el metabolismo y la eliminación de aquélla^{35,36,65}.

El interés médico forense por la metadona proviene de diferentes aspectos, por un lado en relación con la dependencia a opiáceos y el tratamiento sustitutivo de mantenimiento, por otro interesan las muertes relacionadas con el consumo -abusivo o terapéutico- de metadona. Aunque en nuestro país no existen casos bien documentados de muertes originadas por metadona, en otros países son bien conocidos.

En el año 1994 la Drug Abuse Warning Network (DAWN) perteneciente al Department of Health and Human Services de USA comunica, en base a los datos suministrados por los "Medical Examiner", un total de 367 casos de muertes relacionadas con metadona constituyendo un 4,1 % de todas las muertes comunicadas por narcóticos ese año¹². La misma fuente a través del Annual Medical Examiner Data de 1995 informa de un total de 497 muertes que representan un 5,39 % sobre el total, de las cuales en 39 casos la muerte está directamente relacionada con metadona de forma aislada y en 317 casos asociada a otras drogas³.

En Europa se han comunicado desde hace tiempo muertes relacionadas con metadona. El Instituto de Medicina Legal de Ginebra describe 25 muertes entre los años 1981 y 1986, de las cuales 14 fueron directamente ocasionadas por ella⁶⁶; entre los años 1987 y 1993 se comunican 41 muertes de las que en 24 la metadona es la única causa de muerte. Los países nórdicos mencionan también casos de muerte⁶⁷, en Dinamarca la tercera parte de las muertes en drogodependientes fueron causadas por metadona en 1991 y considerando los años 1991-1992 hay un 30% de casos con un significativo incremento en las áreas metropolitanas comparando con el periodo de tiempo 1984-1995.

El Instituto de Psiquiatría de Londres, a través del departamento encargado del estudio de las sustancias de adicción, publica los casos mortales por sobredosis de metadona en el periodo de 1974 al 1992 y destaca el aumento de casos fatales que llega a ser del 80 % por periodos de tres años⁶⁸. Por el contrario, existen datos para pensar que el tratamiento de mantenimiento con metadona disminuye el riesgo de muerte de los adictos a heroína en un 25 % según un trabajo de la Universidad de Sydney⁶⁹ cuyos resultados son coincidentes con observaciones similares realizadas en Estados Unidos, Suecia y Alemania.

Los niveles plasmáticos encontrados en autopsias de víctimas relacionadas con un consumo excesivo de metadona son de 200 - 300 ng/ml o más, mientras que los terapéuticos (tratamientos de mantenimiento) están cercanos a 100 ng/ml⁷⁰.

2.2.3.4 Propoxifeno.

Es un compuesto sintético estructuralmente relacionado con metadona, también farmacológica y toxicológicamente tienen efectos similares.

En Europa y Estados Unidos se usa como droga de abuso, en ocasiones de forma sustitutiva a heroína. El comercio ilegal de este fármaco entre drogodependientes es habitual alcanzando en el mercado negro cada comprimido un precio superior al doble del que tiene el envase completo en farmacias.

Desde los años 60 se conocen los efectos tóxicos de propoxifeno por distintas publicaciones y en 1964 se comunicó la primera muerte relacionada con este producto.

El sistema americano de inspección y encuesta Drug Abuse Warning Network (DAWN) a través del Annual Medical Examiner Data 1994 comunica 351 muertes relacionadas con propoxifeno en ese año. Los datos del año 1995 de la misma red de seguimiento -DAWN- publicados por Substance Abuse and Mental Health Services Administration³ son elocuentes, en 366 casos de muertes por drogas el propoxifeno está presente, la mayor parte de los casos (295 muertes) asociado a otras sustancias y en 12 casos como único responsable del fallecimiento, la etiología accidental y suicida se reparten por igual como formas médico-legales de estas muertes.

Los usos terapéuticos de propoxifeno son como narcótico analgésico y como alternativa al tratamiento de mantenimiento con metadona en sujetos dependientes a heroína. También se ha usado para la detoxificación y mantenimiento de adictos a metadona, pentazozina, codeína, meperidina y oxicodona.

En nuestro país se expende en forma de propoxifeno (dextro) napsilato comercializado bajo la denominación *Darvon* de 65 y 100 mg y como clorhidrato con el nombre comercial de *Deprancol Sosten* en unidades de 150 mg⁷¹. Las dosis recomendadas en usos terapéuticos son de la forma napsilato entre 50 y 100 mg, mientras que la presentación en clorhidrato en torno a los 65 mg.

Hay que destacar algunos datos de la cinética de propoxifeno que tienen especial interés médico-forense. Se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, alcanzando un pico plasmático a la hora o dos horas tras la administración de una dosis única. Sólo una parte de lo absorbido (30% - 70%) pasa a la circulación general en forma no metabolizada, el resto sufre biotransformación por enzimas intestinales y hepáticas durante su absorción. En este fenómeno de "primer paso", que experimenta en el hígado, origina norpropoxifeno por oxidación.

La vida media de eliminación de propoxifeno se establece en torno a las 13 o 14 horas, mientras que su metabolito norpropoxifeno tiene en torno a las 22 horas en administración oral y algo más prolongada (26 horas) en intravenosa. Los niveles plasmáticos de norpropoxifeno se mantienen de forma duradera y alcanzan cifras superiores a las de su precursor. La edad es un factor decisivo en la valoración de la vida media de eliminación de propoxifeno y su metabolito, es bien conocido que los adultos de edad avanzada tienen prolongada en más del doble la vida media de eliminación de estos compuestos respecto a los sujetos jóvenes⁷². Norpropoxifeno y sus conjugados son eliminados por la orina.

El propoxifeno es un narcótico agonista/antagonista capaz de producir dependencia física y psíquica, tolerancia y síndrome de abstinencia. La acción narcótica la ejerce sobre receptores opioides y puede bloquearse por naloxona, aunque en el tratamiento de intoxicaciones por propoxifeno se precisan altas dosis de naloxona y durante tiempo prolongado para revertir la depresión respiratoria y del sistema nervioso central⁷³.

Los efectos cardiotóxicos de propoxifeno no se benefician del tratamiento con naloxona. La cardiotoxicidad se puede detectar clínicamente por las alteraciones electrocardiográficas (prolongación del complejo QRS, ondas ST-T anormales), a veces se observan alteraciones del haz de Hiss con bloqueo de rama e incluso situaciones de asistolia. Estos cambios electrofisiológicos se explican por la capacidad del propoxifeno de bloquear la corriente del sodio hacia el interior celular. Se afecta la despolarización celular con enlentecimiento en la conducción del impulso nervioso a través del miocardio que origina disminución de la contractilidad miocárdica con menor volumen de eyección ventricular y caída de la presión arterial^{74,75}.

La causa de muerte por sobredosis de propoxifeno es habitualmente la depresión respiratoria, las arritmias cardíacas suelen ser un factor que coadyuva en el mecanismo letal.

Los niveles séricos de propoxifeno pueden ser útiles en la clínica para adoptar decisiones terapéuticas pero no nos indican la cantidad administrada, ni la severidad del cuadro tóxico. Se considera que concentraciones entre 5 y 20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ son terapéuticas, más de 20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ son tóxicas y por encima de 50 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ letales. Se puede detectar en sangre propoxifeno y metabolitos a los cuatro días o más de su administración, siempre que la dosis sea suficientemente elevada y en la orina la detección (norpropoxifeno) se prolonga durante varios días.

2.2.3.5 Otros opiáceos.

Otros opiáceos, distintos a los descritos anteriormente, son en ocasiones utilizados como "sustancias de abuso"; así los fármacos que contienen hidromorfona, oximorfona, hidrocodona, oxicodona, meperidina y pentazocina se usan de forma inadecuada y originan verdaderas dependencias.

El sistema de vigilancia americano Drug Abuse Warning Network (DAWN) en el Annual Medical Examiner Data 1995³ menciona un número de muertes no despreciable en las que se encontraba alguno de los opiáceos que aquí nos ocupan. Así se encuentran 140 comunicaciones de muerte relacionada con drogas por hidrocodona, 16 con hidromorfona, meperidina clorhidrato aparece en 41 casos y oxicodona en 51 muertes.

Dependiente de DAWN, la encuesta de los servicios de urgencia hospitalarios (Emergency Departments) - DAWN EDs - que se realiza anualmente y que proporciona los datos que describen el impacto de las drogas de abuso en los servicios de urgencia hospitalarios de los Estados Unidos⁴, menciona que en el primer semestre del 1996 han sido atendidos 5.559 casos relacionados con hidrocodona (1000 casos más que en el mismo periodo del año 1995) y 1337 urgencias en relación con oxicodona.

2.2.3.5.1 Hidromorfona.

Es un opiáceo semisintético derivado de morfina, es entre 7 y 10 veces más potente que ésta. Se utiliza en el tratamiento del dolor moderado y severo asociado a neoplasias en concentraciones mínimas efectivas plasmáticas de 4 ng/ml^{76,77}, también como antitúsígeno.

Se absorbe bien por todas las vías, el 60% de una dosis oral se absorbe con rapidez. La administración intravenosa tiene una vida media de eliminación de 2,6 horas y más del 90% se redistribuye en los tejidos (músculo esquelético, riñón, hígado, tracto intestinal, cerebro) durante los primeros 10 minutos tras la inyección, su volumen de distribución es de 1,2 l/kg. Se metaboliza a hidromorfona-3-glucurónido eliminándose de esta forma y en forma no modificada (6% de la dosis administrada).

Hidromorfona es un μ -agonista y produce todos los síntomas de una intoxicación por opiáceos : depresión respiratoria, somnolencia que evoluciona a estupor y coma, mioclonías, flaccidez muscular, miosis, hipotensión y bradicardia. El tratamiento médico de los cuadros por sobredosificación incluye clonacepam para atender las mioclonías y naloxona⁷⁸. En los casos de muerte debida a hidromorfona, según DAWN Medical Examiner 1995 hubo 16 casos³, el mecanismo se atribuye a colapso circulatorio, apnea y parada cardíaca⁶².

Las concentraciones sanguíneas detectadas en cadáveres, cuya muerte está directamente relacionada con administración endovenosa de hidromorfona (Dilaudid)⁴⁴, se encuentran por encima de 0,1 μ g/ml, generalmente entre 0,5 y 1,2 μ g/ml. La administración prolongada por vía endovenosa de tabletas que previamente han sido machacadas se ha asociado a cuadros de trombosis pulmonar.

2.2.3.5.2 Oximorfona.

Se trata de un opioide sintético relacionado con morfina que tiene efecto agonista puro sobre los receptores μ . Aunque la encuesta del año 1995 de DAWN Medical Examiner recoge 16 menciones no es fácil conocer la incidencia del uso de este compuesto.

Origina intoxicaciones típicas por opiáceos en las que predomina, según la dosis, la depresión neurológica con afectación específica de la función respiratoria. La profunda depresión respiratoria se puede mantener durante cinco horas después de su administración, lo que explica las muertes producidas por oximorfona.

2.2.3.5.3 Hidrocodona.

Estructuralmente es un compuesto similar a codeína con la diferencia de un =O en sustitución de - OH en la posición 6. Este compuesto se encuentra habitualmente asociado a otros fármacos en las presentaciones comerciales al uso, así es frecuente hallarlo en combinación con clorfeniramina, paracetamol, guaifenesina, fenilefrina, etc. Otro compuesto similar, dihidrocodeína, se asocia con aspirina y cafeína en preparados comerciales.

El consumo de hidrocodona parece incrementarse notablemente en los últimos años. En la memoria de 1996 del ya mencionado DAWN - EDs- se observa un aumento del número de casos de urgencias hospitalarias debidas a este opiáceo que pasan de las 2.690 en el año 1988 y crecen progresivamente (3.921 en el 1990, 6.115 en el año 1993) hasta alcanzar en el año 1995 un total de 9.103 casos urgentes. Parece que el año 1996 mantiene la línea de creciente consumo, así en el primer semestre se formularon 5.559 consultas urgentes en hospitales que declaran a SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration)⁴. Los casos de muertes en los que se ve involucrado este derivado de codeína -sólo o asociado a otras sustancias- según las menciones del año 1995 han sido 140, mientras que en el año 1990 sólo se comunicaron 45 muertes³.

Se absorbe bien en el tracto gastrointestinal, su vida media se estima en 3,8 horas. Sufre metabolismo transformándose en hidromorfona que rápidamente se elimina por orina y el pico de concentración del metabolito tiene lugar en torno a las ocho horas.

Hidrocodona como el resto de opiáceos μ -agonistas produce en dosis excesivas depresión respiratoria. Las concentraciones sanguíneas encontradas en sobredosis letales son de 0,3 $\mu\text{g/ml}$ ⁷⁹, en niños se han detectado niveles sanguíneos tras la autopsia de 0,2 $\mu\text{g/ml}$ de hidrocodona⁸⁰.

2.2.3.5.4 Oxicodona.

Es un compuesto semisintético derivado de codeína (7,8-dihidro-14-hidroxicodeinona). Se utiliza asociado a aspirina y paracetamol en algunos países como preparado comercial con fines analgésicos. La potencia y duración del efecto es comparable al de la morfina, aunque en administración oral existe una pérdida de la capacidad analgésica.

Se absorbe por aparato digestivo alcanzando niveles sanguíneos máximos a la hora, la distribución alcanza distintos órganos: cerebro, hígado y contenido biliar. La vida media de eliminación se sitúa entre 2 y 5,5 horas, se adopta generalmente un término de unas 4 horas. El aclaramiento se cuantifica en 0,78 l/min y el volumen de distribución se establece en 2,6 l/kg^{81,82,83,84,85}. De forma similar a hidrocodona, se metaboliza en hígado y se elimina por orina.

El metabolito que origina, 0-demetilado, se encuentra en la orina desde las ocho horas tras una ingesta (4,5 mg) de oxicodona y se puede mantener su detección hasta pasadas 24 horas. La detección en sangre de oxicodona está muy limitada en el tiempo ya que con rapidez se elimina. Con las técnicas analíticas enzimáticas habituales Tdx y EMIT se estima que su detectabilidad es inferior a 24 horas⁸⁶.

La concentración sanguínea terapéutica se encuentra por debajo de 0,1 µg/ml. Los casos de muerte relacionados con sobredosificación de oxicodona han mostrado niveles sanguíneos superiores a 4 µg/ml, si bien hay autores que encuentran en sangre femoral concentraciones que van de 0,6 µg/ml a 1,4 µg/ml con una media de 0,9 µg/ml⁸⁷.

El cuadro clínico de sobredosificación⁸⁸ es muy similar al que muestra la codeína, como en otros opiáceos, se describe en autopsias de muertes relacionadas con oxicodona la existencia de un edema pulmonar no cardiogénico.

2.3 HEROÍNA.

2.3.1 Perspectiva histórica.

Heroína es un derivado sintético de morfina. En el año 1898 se inició su comercio por la empresa farmacéutica alemana Bayer, aunque la síntesis original de heroína se puede atribuir a C.R. Wright (1874) que en sus trabajos de investigación dentro del Hospital St. Mary en Londres, tomó morfina y la hizo reaccionar por ebullición con anhídrido acético obteniendo distintos derivados acetilados de morfina, entre ellos diacetilmorfina o heroína.

El químico de Bayer, Felix Hoffman, sintetizó este nuevo opiáceo el 21 de agosto de 1897, dos semanas después de producir aspirina. La empresa realizó estudios en medios biológicos comparando los efectos de heroína y codeína, al final los investigadores concluyeron que la depresión respiratoria ocasionada por heroína era de menor intensidad que la de codeína. Por ésto Bayer comenzó la producción a gran escala de heroína como potente y seguro antitusígeno.

Aunque se hicieron algunos ensayos iniciales con heroína para conocer su actividad biológica, destacando los que tuvieron lugar en el Owens College de Londres, fue su comercialización lo que facilitó el conocimiento de los efectos en el hombre por el uso clínico de este nuevo opiáceo. Una publicación de Strube en 1898 perfila los resultados favorables del uso de heroína en el tratamiento de pacientes tuberculosos al observar que disminuye la tos severa y facilita la inducción al sueño, además no encuentra efectos indeseables.

En las primeras décadas de este siglo era reconocido el problema de la adicción a heroína. La American Medical Association (A.M.A.) en 1920 informó a favor la prohibición de importación, manufactura y venta de heroína. El día 7 de junio de 1924 se aprobó en el Congreso de Estados Unidos la ley nº 274 de "prohibición de importación de opio con el propósito de manufacturar heroína"; en el año 1929, la ley nº 672 de 19 de enero, crea dos granjas para el confinamiento y tratamiento de adictos a narcóticos.

Estas normas sobre narcóticos fueron posibles gracias a la actividad de Stephen Porter (Representante de Pittsburgh) que estaba interesado no sólo en el control legal de opiáceos, sino también en la investigación de tratamientos médicos para la desintoxicación.

La relación de los narcóticos -especialmente heroína- con actos delictivos queda ya patente en la ciudad de Nueva York en la que el 75% de todos los delitos ocurridos en el año 1924 estaban relacionados con heroína, hoy se estima que el 48% de los asesinatos de Estados Unidos están relacionados con drogas según DEA 1997⁸⁹. Estos hechos fueron aprovechados y exagerados por los "prohibicionistas" americanos, uno de los más destacados fue el capitán y diputado Richmond Pearson Hobson que realizó una particular guerra contra los narcóticos a través del Congreso y popularizó los riesgos de la heroína - en ocasiones diseminando grandes errores sobre la adicción y su tratamiento -.

La normativa española sobre drogas nació como respuesta a unos intereses fundamentalmente económicos, más que como una iniciativa estatal de velar por la salud pública. En otras palabras, respondía básicamente a la defensa de los intereses especulativos de ciertos oficios, y no a la actual idea subyacente al concepto de "Estado del bienestar", en virtud de la cual la salud pública es un valor social cuya tutela corresponde al Gobierno.

La Ley de Sanidad de 1855 establecía normas para la expedición de psicofármacos (artículo 83) "medicamentos heróicos". A su vez las *Ordenanzas para el ejercicio de la profesión de farmacia, comercio de drogas y plantas medicinales* concretan el proceder a seguir por el farmacéutico con respecto a los géneros medicinales de propiedades "heróicas" - lo que hoy denominamos "psicoactivas" -, así como al archivo y registro de las recetas de estos productos⁹⁰.

El primer tratado internacional sobre opiáceos que tuvo trascendencia y general cumplimiento por los países participantes fue el convocado por Holanda y Estados Unidos en diciembre de 1911 como Conferencia Internacional sobre el Opio en La Haya.

La reunión fue presidida por el americano Bishop Brent y tras varias semanas de trabajos, los delegados firmaron la Convención de La Haya sobre el Opio en enero de 1912. En ella se comprometían los países intervinientes a crear normas que limitaran el uso de drogas al ámbito sanitario exclusivamente, a controlar su distribución, producción y manufactura.

España ratificó el Convenio de La Haya en 1919 y antes, el 27 de febrero de 1918, una real orden circular concretaba las primeras normas que surgían de aquél compromiso internacional. Más concreto y efectivo fue el Real Decreto de julio de 1918 en el que se publicaba el *Reglamento para el comercio y dispensación de sustancias tóxicas y en especial de las que ejercen acción narcótica, antitérmica o anestésica*, este reglamento tenía por finalidad suprimir el abuso de opio, morfina y cocaína. Algunos preceptos del reglamento son similares a los recogidos en la "ley Harrison" (Harrison Bill) americana de 1914, ley que se aprobó con facilidad en la Cámara de Representantes y tuvo graves dificultades para pasar por el Senado, entró en vigor el 1 de marzo de 1915³⁹.

Un nuevo convenio tuvo lugar el año 1925 en Ginebra sobre Restricción en el tráfico de opio, morfina y cocaína. Este Convenio Internacional fue firmado por España el 15 de febrero de 1925 y en él se acordaba restringir estas drogas a usos médicos y científicos. Tres años más tarde se elaboran en nuestro país las *Bases para la Restricción del Estado en la distribución y venta de estupefacientes*, lo que supone el desarrollo normativo adecuado al convenio de Ginebra. Estas disposiciones abundan en términos tales como "tenencia ilícita", "posesión y tráfico de drogas", y especifican sanciones graves a imponer a aquéllos profesionales (médicos, farmacéuticos) que incumplan las Bases para la Restricción.

2.3.2 Elaboración.

La heroína puede ser manufacturada directamente a partir del opio o de la morfina purificada. Morfina y opio son vendidos en los mercados ilícitos y la disponibilidad de cada uno depende ampliamente de las condiciones locales.

La extracción de la morfina a partir del opio crudo requiere una serie de pasos. En una primera fase se disuelve opio en agua acidificada (lima), p.e.: para un kilogramo de opio se necesitan 2 litros de agua con 200 gramos de lima, el producto resultante se filtra. Luego se añade cloruro amónico (250 g en nuestro ejemplo) al filtrado obtenido lo que facilita el precipitado de morfina base que se recoge en un lienzo fino y se lava con agua. La morfina recogida se mezcla con carbón y ácido clorhídrico o sulfúrico y esta mezcla se filtra después, al nuevo filtrado se añade hidróxido amónico que precipita la morfina purificada que se deja secar al aire.

En la segunda fase de elaboración, la morfina obtenida por el procedimiento anterior se adiciona de anhídrido acético y la mezcla se mantiene en contacto durante cinco horas a temperatura constante. Una vez enfriada la mezcla se neutraliza con carbonato sódico con lo cual precipita heroína que se retira por filtración.

El último paso en la "purificación" de la heroína requiere el lavado del filtrado obtenido y la redisolución de la heroína bruta obtenida en agua hirviendo con ácido cítrico y carbón. El producto obtenido es filtrado y purificado al precipitar de nuevo la heroína mediante la adición de carbonato sódico, así se obtiene la denominada heroína *base*. Si lo que se prefiere es producir heroína en forma de *clorhidrato*, se disuelve la *base* en acetona y se añade ácido clorhídrico a la solución.

Dependiendo de la demanda, los laboratorios clandestinos en ocasiones producen morfina en vez de heroína. Un proceso de extracción de morfina consiste en disolver opio en agua acidulada con alcohol y éter, a partes iguales estos dos últimos, y luego se filtra la mezcla. Se purifica el extracto mediante solución en medio sulfúrico (ácido sulfúrico diluido) con carbón durante media hora, posteriormente se filtra la solución y se añade al filtrado hidróxido amónico dejando desecar al aire, así se consiguen unos gránulos que son triturados para obtener un polvo de morfina.

Los métodos químicos que utilizan los laboratorios clandestinos para sintetizar heroína y morfina explica que se "arrastran" algunas sustancias contenidas en el opio y que parte de ellas se transformen a lo largo del proceso. Así es frecuente encontrar en heroína, supuestamente purificada, cantidades no despreciables de acetilcodeína, hasta el punto de utilizar este dato para conocer el origen de la muestra ya que se sabe que la proporción heroína/acetilcodeína es muy alta (20,9/1) en la heroína procedente de Afganistán, mientras que la procedente de China tiene un cociente bajo (6,38/1). La adopción de medidas legales modifican el mercado y los procesos de manufactura y elaboración de heroína⁹¹.

2.3.3 Impurezas, adulterantes y diluyentes.

Los productos que -junto a la morfina- se extraen del opio por los procedimientos químicos ilegales y que al final se encuentran en la heroína, en forma de sustancias que contaminan la supuesta pureza, son denominados **impurezas**^{92,93,94,95,96,97}. Entre los opiáceos que con mayor frecuencia se detectan como contaminantes se han citado morfina, 6-monoacetil-morfina, papaverina, codeína.

Se suele llamar **adulterantes**⁹⁸ las sustancias añadidas de propósito a la heroína con la intención de alterar las propiedades, paliar los efectos indeseados o facilitar su administración. Los adulterantes han variado ampliamente a lo largo del tiempo.

Cuando se comparan los constituyentes de la heroína ilícita durante un amplio periodo de tiempo, como hace Kaa E.⁹⁷ que estudia la composición desde el año 1981 hasta el 1992 analizando 383 muestras, observa que en Alemania a los inicios de la década de los años 80 los adulterantes más frecuentes eran cafeína y procaína, según transcurre la década se encuentran con mayor frecuencia fenobarbital y metacualona. En los inicios de los años noventa va disminuyendo la presencia de metacualona y fenobarbital para ser sustituidos progresivamente por paracetamol en combinación con cafeína⁹⁹.

En España, el Departamento de Madrid del Instituto Nacional de Toxicología publicó en el año 1989 la composición de distintas muestras de drogas de abuso, entre ellas de heroína. Detalla que las muestras fueron tomadas entre septiembre de 1985 y mayo de 1987 y encuentran en heroína los siguientes adulterantes : cafeína (68,4 %), fenobarbital (19,7 %), metacualona (13,4 %) y procaína (13,4 %). Otros autores españoles abundan en similar composición en los últimos años¹⁰⁰. Los resultados obtenidos coinciden con los aportados por Kaa en Alemania.

Los trabajos más recientes que en nuestro país estudian la composición de heroína en base a los adulterantes mantienen como productos más frecuentemente encontrados la cafeína y paracetamol, en los últimos tiempos se detecta progresivamente más cantidad de piracetam y se constata la desaparición de fenobarbital y procaína⁹⁸.

En la actualidad los adulterantes que se encuentran más abundantemente en los alijos de heroína son:

- Quinina
- Difenidramina
- Paracetamol
- Cafeína
- Lidocaína
- Cocaína
- Procaína.

El año 1997 la Drug Enforcement Administration (DEA)¹⁰¹ americana publicó una relación de adulterantes que con mayor frecuencia se encuentran en heroína según la procedencia de ésta :

- sureste asiático :
 - quinina
 - difenhidramina
 - cafeína
 - paracetamol
- suroeste asiático :
 - quinina
 - procaína
 - cafeína
 - paracetamol

- Méjico :
quinina
difenhidramina
- América :
procaína
quinina
cafeína.

Los intentos de identificar la procedencia de la heroína mediante su composición de adulterantes ha sido exitosa en muchos casos y se ha propuesto por algunos^{94,97} como si fuera la "huella digital química" que nos permitiera diferenciar muestras de distintos orígenes. Se ha utilizado con esta finalidad la cuantificación de cafeína, procaína, estricnina y arsénico^{102,103}.

Los **diluyentes** constituyen el tercer grupo de sustancias que podemos encontrar en las muestras de heroína ilegal⁹⁷. Son productos desprovistos de efectos fisiológicos y que se añaden con la finalidad de incrementar el volumen final del producto.

La presencia de uno u otro diluyente y su concentración en la mezcla final han sido también utilizadas para identificar su procedencia. La riqueza en manitol de la muestras asiáticas contrasta con la escasez del mismo en las de origen mejicano, mientras que la lactosa constituye el diluyente fundamental de esta última procedencia, el almidón y el manitol caracterizan la heroína de manufactura sudamericana (DEA 1997).

Se enumeran como diluyentes frecuentemente encontrados: lactosa, manitol, dextrosa, almidón, glucosa.

Algunos de los productos usados para incrementar el peso de la mezcla final de heroína son añadidos progresivamente a lo largo de la cadena de tráfico ilícito. Los diluyentes arriba mencionados son los que con frecuencia se adicionan en las primeras etapas del comercio, pero según va llegando la heroína a las manos de los "minoristas" se añaden otros productos que se encuentran al alcance de éstos (talco, harina, etc), al final el resultado de lo que llega al consumidor es una abigarrada mezcla de escasa riqueza en heroína.

La pureza del producto final, que llamamos heroína, es muy variable geográficamente. Incluso dentro de un mismo país existen diferencias relacionadas con el lugar dónde se adquiere, es distinta según estemos en una gran ciudad o en un medio predominantemente rural. En nuestro país el Grupo de Estudio de la Pureza de las Drogas Incautadas dependiente del Plan Nacional sobre Drogas publicó en 1996 la gran diferencia de pureza según el lugar de España dónde se compre, variando desde menos del 30 % a más del 60 % de riqueza en la isla de Mallorca⁹⁸.

De forma coincidente, en todos los países desarrollados, se ha detectado un incremento notable de la pureza de la heroína en los últimos años. En la década de los 80 la riqueza de la heroína de la calle se encontraba en torno al 7 %, en los primeros años de nuestra década estaba entre el 25 y 30 %, el año 1995 estaba cercana al 40 % y parece que esta tendencia está estabilizada (Domestic Monitory Program - DEA)¹⁰¹.

El incremento de la pureza de la droga en la calle se corresponde directamente con la mayor disponibilidad de heroína de alta riqueza procedente de sudamérica y sudeste asiático. Según Heroin Signature Program 1995 de DEA la heroína de origen sudamericano tiene 81,4 % en pureza, la del sudeste asiático 69,2 %, la procedente del sudoeste asiático 59 % y la más pobre es la mejicana con 43,1 %.

2.3.4 Epidemiología del consumo de heroína.

Valorar la incidencia y distribución del consumo de heroína entre la población general es una tarea difícil y se acepta un conocimiento aproximado del fenómeno por el análisis de factores indirectamente relacionados. Para conocer la proporción de abusadores o dependientes es necesario saber el número de consumidores.

Entre los diferentes procedimientos usados para recoger datos sobre la incidencia del consumo de heroína, la encuesta constituye el elemento más útil. Con esta finalidad se creó en USA la National Household Survey on Drug Abuse (NHSDA) que patrocinada por NIDA en 1974 aporta información sobre drogas de abuso, incluida heroína, a través de una encuesta domiciliaria.

Otro procedimiento de encuesta anual similar, que incluye una muestra de unas 30.000 personas, es el empleado por Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA).

También se usan como métodos de estimación las consultas médicas hospitalarias (urgencias hospitalarias) relacionadas con drogas de abuso, en nuestro caso heroína, que se atienden en centros que participan en programas de seguimiento, así como las declaraciones de muertes relacionadas/inducidas por opiáceos - heroína - que comunican los médicos forenses (*medical examiners/coroners* según los países). Dentro del SAMHSA norteamericano se incluye Drug Abuse Warning Network^{3,4} (DAWN) como sistema de recogida de datos en los ámbitos hospitalario (*emergency departments : EDs*) y médico-legal (*medical examiners : MEs*).

En nuestro continente se reúnen estos datos a través del European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) que fue creado en 1993 por el Consejo de Europa estableciendo su sede en Lisboa el año 1994. La actividad de esta institución se diversifica en cuatro tareas: reunir y analizar los datos, homogeneizar los datos procedentes de distintos países, publicar los resultados y cooperar con órganos internacionales y otros países.

Otra institución europea en el campo de la recogida de datos sobre drogas de abuso es el Pompidou Group que abarca los países de la Unión Europea así como las zonas central y oriental. Entre sus funciones destacan: promover estrategias globales frente a las drogas, optimizar los sistemas de recogida de datos y estimular la transferencia de información entre administraciones y grupos profesionales.

Este organismo europeo es también conocido como *Cooperation Group to Combat Drug Abuse and Illicit Trafficking*, se trata de una institución intergubernamental que se creó en el año 1971. El Grupo Pompidou está organizado en tres niveles : ministerial (se reúne cada 2 o 3 años), corresponsales permanentes (se reúnen cada 6 meses) y el grupo de expertos que participan en seminarios y equipos de trabajo para examinar cuestiones técnicas.

En 1983 se creó dentro del Grupo Pompidou una comisión de expertos epidemiólogos, basada en las ideas desarrolladas por Community Epidemiology Work Group (CEWG), para conocer la incidencia de las drogas en Europa a nivel nacional y local, y también para establecer categorías comparables en los estudios epidemiológicos de los distintos países.

Estas dos organizaciones europeas, Group Pompidou y EMCDDA, trabajan de forma conjunta en algunos proyectos¹⁰⁴. En el mes de junio de 1996 organizaron un seminario científico para valorar la prevalencia de las drogas de abuso. Para alcanzar este objetivo partieron de fuentes de información a nivel nacional y local, por ciudades.

En el ámbito nacional se partió de la información aportada el año 1995 por 27 países: los de la Unión Europea y otros de la Europa central y oriental. Otra fuente de información a nivel nacional procedía de los informes anuales que sobre los problemas relacionados con drogas recibió en 1996 de los países de la Unión el EMCDDA.

La información a nivel local procedió de los informes aportados sobre incidencia de drogas de abuso y sus circunstancias en 14 ciudades durante el año 1995. Estas ciudades fueron : Amsterdam, Atenas, Barcelona, Copenhague, Dublin, Hamburgo, Helsinki, Lieja, Lisboa, Londres, Oslo, Paris, Roma y Estocolmo. El estudio de la incidencia local por declaración de las grandes ciudades está inspirado en el modelo del NIDA que toma 20 grandes localidades de USA que describen tres indicadores : mortalidad, admisión a tratamiento, detenciones/alijos incautados.

En España la recogida y tratamiento de datos epidemiológicos sobre drogas de abuso está a cargo del Ministerio del Interior (antes de Justicia e Interior) en la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas (DGPNSD) y específicamente, dentro de ésta, a través del Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT). Cada año, desde 1987, el SEIT emite un informe que publica el Ministerio en el que se recogen básicamente tres indicadores : indicador tratamiento, indicador urgencia e indicador mortalidad.

Los sistemas de detección epidemiológica de incidencia de drogas de abuso, las organizaciones e instituciones que trabajan en la recogida y tratamiento de datos sobre este fenómeno, nos permiten aproximarnos al impacto que las drogas ejercen en las poblaciones de los países desarrollados.

Los datos procedentes de USA¹⁰⁵ sobre el consumo de heroína se pueden esquematizar como sigue:

- En los últimos años se estima que puede haber en torno a 550.000 consumidores regulares de heroína.
- Cerca de 2,1 millones de americanos han probado heroína en los últimos años.
- La heroína se ha hecho popular en los últimos años, por ello se ha producido un notable incremento sobre el indicador urgencia hospitalaria que ha pasado de 38.063 consultas en 1988 a 64.221 en el año 1994.
- El perfil del consumidor de heroína en USA es el de un varón de raza negra residente en una gran área metropolitana del noroeste de la unión.
- La actual popularidad de la heroína viene determinada por su relativo bajo precio y alta riqueza. Esta elevada riqueza atrae a los consumidores que pueden conseguir efectos deseados por vía distinta de la administración endovenosa, de la que huyen por el riesgo de contagio de SIDA.
- Desde el inicio de los 90' se ha incrementado el número de jóvenes que se introducen en el consumo de heroína inhalada o *snifada*, mientras que ha disminuído el inicio por consumo parenteral.

Para Europa, el informe global emitido por EMCDDA¹⁰⁴ en 1996 aporta algunos datos de relevancia que describimos:

- La proporción de adultos que usan drogas ilegales va desde el 5 a 8 % de Finlandia, Bélgica y Suecia; hasta el 11 a 16 % que se observa en Francia, Alemania, España y Reino Unido. Entre la población juvenil el porcentaje se eleva hasta el 20 %.
- Entre la población juvenil de estudiantes el consumo de cannabis alcanza entre 10 y 20 % de consumidores, mientras que la heroína y cocaína afecta a menos del 1 % de este grupo.

- La heroína es la droga más importante en términos de ocasionar problemas socio-sanitarios. En la mayoría de los países, entre el 70 y el 95 % de las primeras demandas de tratamiento están relacionadas con heroína. En los países nórdicos, la solicitud de primer tratamiento tiene su origen en el consumo de anfetamina (36 a 42 %).

El Grupo Pompidou¹⁰⁴ describe que entre 1994 y 1995 los indicadores de demanda de heroína (uso, tratamiento, detenciones policiales) se han estabilizado o elevado escasamente. El incremento del consumo de heroína se recoge en Bulgaria (entre los gitanos), Croacia, Dinamarca (entre los jóvenes) y en Irlanda y la República Checa sin preponderancia de rangos de edad. Algunos indicadores de demanda se han estabilizado en : Alemania, Noruega, Portugal, el Reino Unido y España. Mientras la vía de consumo fundamental es la administración inyectada, una pequeña tendencia hacia la administración fumada se comunica por países como Alemania y España, especialmente entre los jóvenes. En algunos países (Chipre, Finlandia y Rumanía) la incidencia del consumo de heroína es baja y se habla de uso ocasional.

2.3.5 Epidemiología en España. Datos sobre los "Indicadores" del SEIT.

Los datos epidemiológicos que en este trabajo interesan son los que tratan de la incidencia del consumo de heroína en la población española y especialmente en Madrid.

Vamos a exponer los datos que publica el SEIT, tomando los referidos al año 1995¹⁰⁶ que consideramos representativo ya que constituye el punto temporal medio de la muestra que utilizamos en este trabajo que va del año 1993 al 1997.

De acuerdo con la estructuración del informe anual de 1995, vamos a enumerar los datos de mayor interés según los distintos indicadores utilizados :

2.3.5.1 Indicador tratamiento.

Cabe destacar los casos de "admisiones a tratamiento por consumo de opiáceos o cocaína".

- El número total de admisiones a tratamiento fue de 42.317 de los cuales "sin tratamiento previo" eran 18.519, el resto habían sido sometidos a tratamientos anteriores.

- La comunidad autónoma con mayor número de casos era Andalucía con 7.128, pero la que presentaba mayor tasa por 100.000 habitantes era Canarias con 379.9 y la de menor tasa Navarra con 26.4.

- La Comunidad de Madrid tenía 5.118 casos que suponen una tasa de 103.4 por 100.000 habitantes.

Dentro del indicador tratamiento nos interesa concretar los datos relativos a los consumidores de heroína :

- El intervalo de edad en que con mayor frecuencia son admitidos a tratamiento es de 25 a 29 años que suponen un 33,3 %, seguido del grupo 20 a 24 años con 24,6 % y el que va de 30 a 34 años tiene 24 %. Entre 20 y 34 años se acumula el 82 % de la población admitida a tratamiento.

- Los porcentajes atribuidos a cada uno de los intervalos de edad anteriormente descritos para el total de casos es muy similar al encontrado en el grupo de casos "sin tratamiento previo" y en el de "tratamiento previo".

2.3.5.2 Indicador Urgencia.

La distribución de los episodios de urgencia relacionados con el consumo de opiáceos o cocaína constituyen un total de 16.519 casos a lo largo del año 1995 en toda España. La distribución por trimestres de estas incidencias urgentes ofrecen diferencias escasas, 4.053, 4.324, 4.212 y 3.930 en los cuatro trimestres respectivamente del primero al cuarto del año natural. La comunidad autónoma de mayor incidencia es Madrid con un total de 5.763 urgencias, cifra muy superior a la siguiente en número de casos que es Cataluña con 1.839.

Centrándonos en los episodios de urgencia relacionados con heroína podemos destacar los siguientes hallazgos :

- Los casos de urgencia producidos por heroína fueron 11.501 sobre el total de 16.519.
- La media de edad de los que acudieron a urgencias era de 28,5 años.
- Predominaron las urgencias en hombres : 9.206 casos (80,2%).
- El motivo predominante de consulta en urgencias fue un "problema orgánico" (45,5 %), seguido de "síndrome de abstinencia" (24,9 %), "sobredosis" sólo se observa en 9,3 %.
- La "condición legal" o situación legal del que acude a urgencias era "detenido" en 1.473 casos (13 %).

	Heroína	Metadona	Otros Opiáceos	Cocaína
Sobredosis	9.3%	8.6%	25.0%	11.9%
Reac. indeseable	3.6%	2.7%	11.6%	11.8%
Sínd. abstinencia	24.9%	20.5%	24.1%	4.3%
Probl. orgánico	45.5%	50.0%	18.8%	45.5%
Probl. psicopatog.	5.1%	6.3%	13.4%	20.2%
Otros	11.6%	11.9%	7.1%	6.3%

FUENTE: DGPNSD. Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT).

En la Comunidad de Madrid, los datos relacionados con las urgencias relacionadas con heroína se pueden resumir en los siguientes puntos :

- El número de episodios ocurridos fue de 5.763.
- La edad media de los que acudieron era de 29,7 años.
- El 79,6 % eran hombres y sólo 2,4 % estaban detenidos.
- De todos los episodios urgentes originados por drogas de abuso, la heroína ocasionó el 90,7 % de ellos.
- El motivo de consulta que se produjo con mayor frecuencia (75,8 %) fue "problema orgánico", seguido de "problema psicopatológico" en 7,5 % y "síndrome de abstinencia" en 6,6 %.

DROGA PRINCIPAL (Nº de casos)	
Heroína	5225
Metadona	98
Otros opiáceos	35
Cocaína	405
DROGA PRINCIPAL (Porcentaje)	
Heroína	90.7%
Metadona	1.7%
Otros opiáceos	.6%
Cocaína	7.0%
MOTIVO DE CONSULTA (Nº de casos)	
Sobredosis	224
Reac. indeseable	329
Sínd. abstinencia	378
Probl. orgánico	4366
Probl. psicopatológico	431
Otros	33
MOTIVO DE CONSULTA (Porcentaje)	
Sobredosis	3.9%
Reac. indeseable	5.7%
Sínd. abstinencia	6.6%
Probl. orgánico	75.8%
Probl. psicopatológico	7.5%
Otros	.6%

FUENTE: DGPNSD. Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT).

2.3.5.3 Indicador mortalidad^{106,107,108}

Si tomamos las seis grandes ciudades españolas que se relacionan, la distribución por sexo y edad de los fallecidos por drogas de abuso es la siguiente :

	Hombres		Mujeres		Total	
	Nº de casos	Edad Media	Nº de casos	Edad Media	Nº de casos	Edad Media
Barcelona	122	30.7	28	28.7	150	30.4
Bilbao	31	31.1	7	33.1	38	31.5
Madrid	118	31.5	14	34.5	132	31.8
Sevilla	18	29.4	3	30.3	21	29.5
Valencia	30	29.9	5	29.2	35	29.8
Zaragoza	15	28.7	3	29.0	18	28.8
Otras áreas	178	29.9	20	27.1	198	29.6
Total	512	30.5	80	29.8	592	30.4

La procedencia del cadáver :

	Barcelona	Bilbao	Madrid	Sevilla	Valencia
Domicilio	55.6%	51.4%	47.0%	47.6%	51.5%
Hotel	11.3%	5.4%	3.0%	4.8%	.0%
Calle	24.8%	32.4%	27.3%	19.0%	24.2%
Est. Públic.	.0%	.0%	3.0%	4.8%	6.1%
Hospitales	8.3%	10.8%	16.7%	19.0%	18.2%
Cárcel	.0%	.0%	.8%	.0%	.0%
Otros	.0%	.0%	2.3%	4.8%	.0%
Total	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
Nº casos	133	37	132	21	33

FUENTE: DGPNSD. Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT).

Características generales de los fallecidos por reacción aguda tras el consumo de opiáceos/cocaína en España (1995).

	Seis Ciudades(*)	Otras Áreas	Total
NÚMERO DE FALLECIDOS	394	198	592
SEXO			
Hombres	84.8%	89.9%	86.9%
Mujeres	15.2%	10.1%	13.5%
EDAD MEDIA (años)	30.8	29.6	30.4
GRUPO DE EDAD (años)			
< 15	.0%	.0%	.0%
15-19	1.0%	4.7%	2.6%
20-24	12.1%	14.1%	12.7%
25-29	33.9%	34.9%	34.3%
30-34	30.1%	24.5%	28.2%
35-39	11.8%	14.6%	12.7%
40-44	7.7%	4.2%	6.5%
>= 45	3.3%	2.1%	2.9%
PROCEDENCIA			
Domicilio	52.1%	36.5%	47.1%
Hotel	6.4%	5.8%	6.2%
Calle	24.9%	32.6%	27.3%
Est. Públicos.	1.9%	4.1%	2.5%
Hospitales	12.8%	16.9%	14.1%
Cárcel	.5%	1.7%	.9%
Otros	1.3%	2.9%	1.8%
(*) Datos de las ciudades de Barcelona, Bilbao, Madrid, Sevilla, Valencia y Zaragoza.			

FUENTE: DGPNSD. Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT).

Drogas detectadas en los análisis toxicológicos de las muestras biológicas de fallecidos por reacción aguda, según ciudad de fallecimiento (números absolutos).

	Barcel	Bilbao	Madrid	Sevilla	Valencia	Zaragoza	Otras	Total
Heroína/Morfina	94	25	100	11	34	1	142	407
Metadona	11	3	6	0	2	0	17	39
Codeína	108	0	46	10	9	0	48	221
Otros opiac.	1	0	62	0	0	1	23	87
Cocaína	21	9	31	2	10	1	46	120
Barbitúricos	0	3	1	0	0	0	4	8
Benzodiacepinas	83	19	64	4	22	0	66	258
Anfetaminas/Deriv.	3	1	7	0	4	0	9	24
Analgésicos	16	0	5	1	0	0	3	25
Antidepresivos	1	0	1	0	0	0	1	3
Alcohol	44	9	21	2	3	0	66	145
Aditivos tóxicos	0	0	15	0	0	0	5	20
Otros	83	2	68	9	8	0	45	215
Total	127	28	120	12	34	1	164	486

Nota del SEIT : Sólo se dispone de los análisis toxicológicos realizados a una parte de los fallecidos. Cada una de las muestras puede presentar resultados positivos para varias drogas. Por esta razón, el total de muestras analizadas (486) siempre es muy inferior a la suma de resultados positivos para todas las drogas.

Los resultados de los análisis toxicológicos presentados corresponden a las muestras biológicas analizadas, y no sólo a las muestras de sangre.

FUENTE: DGPNSD. Sistema Estatal de Información sobre Toxicomanías (SEIT).

Hay que destacar la abundante presencia de heroína en los análisis del total y especialmente en la Comunidad de Madrid. También la codeína y otros opiáceos, constituyentes habituales en la heroína, se identifican en buena parte de casos. También llama la atención que la metadona se encuentra en muy escaso número de muestras, en concreto en Madrid se detecta en 6 ocasiones, en Barcelona en 11 y cuando observamos el total tan sólo en 39 se obtiene metadona frente a 407 muestras que mostraron heroína/morfina.

2.3.6 Elementos toxocinéticos de heroína.

Describimos en este apartado algunos datos sobre la cinética de heroína que interesan en la interpretación de los resultados que aquí obtenemos.

Como ya queda expuesto, la acetilación de dos hidroxilos de morfina origina heroína. En el organismo es rápidamente convertida en 6-monoacetilmorfina por deacetilación y siguiendo este procedimiento se origina morfina. La conversión en 6-acetilmorfina se produce de forma rápida, en pocos minutos (7 a 10 minutos) y la transformación completa a morfina tiene lugar en pocas horas.

En Europa se consume por distintas vías, aunque la preferente es la inyección intravenosa que origina un porcentaje de morfina superior al obtenido a partir de la administración inhalada (fumada en los denominados "chinos" en el argot de los consumidores).

El único metabolito inmediato de heroína es 6-acetilmorfina que tiene una muy corta vida media y su presencia nos permite considerar consumo reciente de ésta. Aunque este metabolito no ha sido rutinariamente investigado en los casos de muerte relacionada con opiáceos, en la actualidad se tiende a incorporarlo al protocolo de trabajo utilizando técnicas cromatográficas sensibles ya que su presencia aporta importante información.

En casos de muertes relacionadas con heroína se han estudiado de forma sistemática las concentraciones de morfina en sangre, hígado, orina y bilis. En pocas ocasiones se ha realizado en estas muertes un barrido analítico sistemático en distintos órganos y biofluidos de morfina o de 6-acetilmorfina.

La eliminación urinaria de los metabolitos de heroína y su detección requiere una cuidadosa interpretación ya que hay fenómenos que nos pueden conducir a error. Así, hoy conocemos que podemos encontrar, mediante técnicas analíticas sensibles, morfina y codeína en orina tras ingesta de semillas (poppy seeds) con las que se aderezan algunos tipos de pan. La presencia de 6-acetilmorfina en la orina sólo es explicable tras el consumo de heroína.

La muestra urinaria de un heroíno-dependiente puede contener 6-monoacetilmorfina no sólo por la biotransformación de heroína, también ésta tiene en su composición contaminación con monoacetilmorfina y otros opiáceos que nos explican su presencia urinaria y hemática. La ausencia de este metabolito monoacetilado en las muestras biológicas no permite excluir consumo de heroína hace varias horas, de forma que el tiempo transcurrido hace posible su no detección.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 MATERIAL.

3.1.1 Población de estudio.

Se han utilizado en este trabajo 221 cadáveres autopsiados en el Instituto Anatómico Forense de Madrid entre enero de 1993 y diciembre de 1997.

La causa fundamental de la muerte está relacionada en todos los casos con la administración de drogas de abuso, en 198 cadáveres expresada como "reacción adversa a drogas de abuso" (RADA) o como "sobredosis por drogas", en los 23 casos restantes se establece relación indirecta con el consumo de drogas.

3.1.1.1 Criterios de inclusión.

Los criterios utilizados para la inclusión de los cadáveres en el estudio han sido:

a.- Criterios generales.

- Cadáver procedente del partido judicial de Madrid.
- Autopsia realizada en el Instituto Anatómico Forense de Madrid entre enero de 1993 y diciembre de 1997.
- Cadáver de adulto, de más de 18 años de edad.
- Data estimada de la muerte en el momento de realizar la autopsia menor de 96 horas.
- Causa fundamental de la muerte relacionada con consumo de drogas de abuso.

b.- Criterios especiales.

- Presencia de jeringuilla acoplada a aguja introducida en un trayecto venoso del cadáver que se observa en el momento de practicar la diligencia de "levantamiento del cadáver".

- Presencia de los elementos utilizados para la preparación del producto inyectable en el entorno del cadáver (papelina, cucharilla, ácido -limón-, etc).

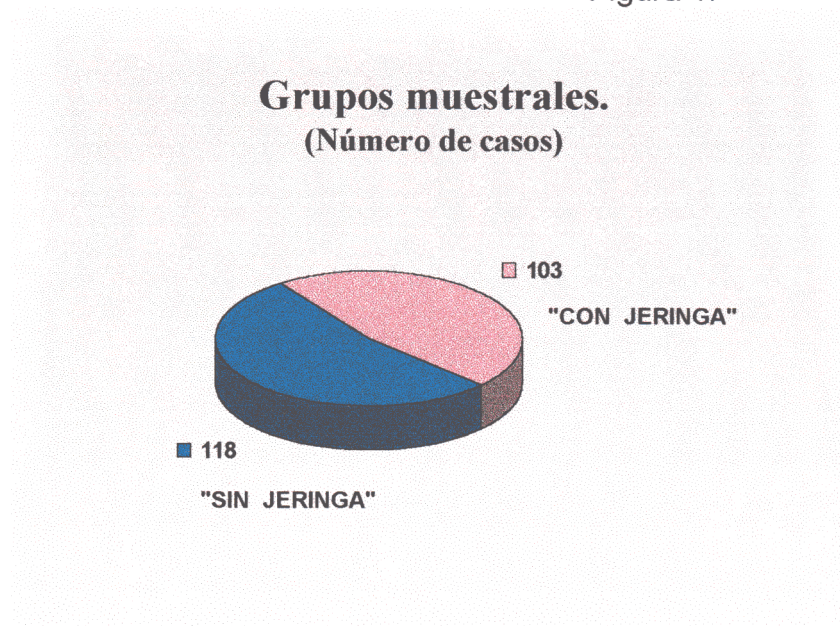
- La jeringuilla enviada para análisis toxicológico al laboratorio.

- La causa inmediata de la muerte incluida entre las siguientes : reacción adversa a drogas de abuso, parada cardio-respiratoria, edema agudo de pulmón, insuficiencia cardio-respiratoria, shock tóxico por drogas de abuso.

3.1.1.2 Grupos muestrales. (Figura 1.)

Tras aplicar los criterios expuestos se han obtenido dos grupos, uno constituido por todos los cadáveres que cumplen tanto los criterios generales como los especiales, obteniéndose una población de 103 casos, llamamos a este grupo "*con jeringa*". El otro grupo se ha obtenido al tomar por procedimiento aleatorio simple 118 cadáveres entre los que cumplen los criterios generales, denominamos a este grupo "*sin jeringa*".

Figura 1.



3.1.2 Datos generales de la población.

Consideramos datos generales los recogidos en el apartado primero de la ***"Ficha de recogida de datos"*** (ver página 86). Incluimos en este apartado: *sexo, estado civil, data de la muerte y edad.*

3.1.2.1 Sexo. (Tablas 1 a 4, figura 2)

De la población general constituida por 221 cadáveres, 208 fueron varones (94,1 %) y 13 mujeres (5,9 %).

La distribución por sexo en cada subgrupo muestral es :

Nº de casos.

Tabla 1.

	Total	Con jeringa	Sin jeringa
hombres	208	95	113
mujeres	13	8	5

Porcentaje.

Tabla 2.

	Total	Con jeringa	Sin jeringa
hombres	94,1	92,2	95,8
mujeres	5,9	7,8	4,2

Figura 2. Distribución por sexo.

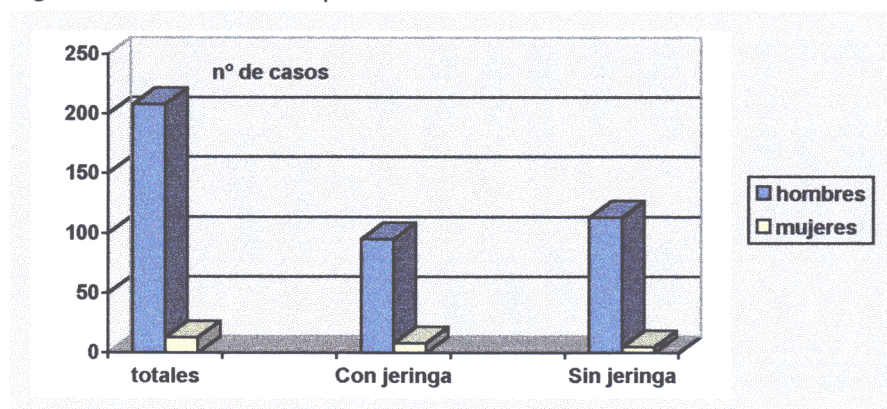
**Comparación de proporciones :****Hombre.**

Tabla 3.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	103	95
Sin jeringa	118	113

p= 0,002**Mujer.**

Tabla 4.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	103	8
Sin jeringa	118	5

p=0,273

3.1.2.2 Estado civil. (Tablas 5 a 7, figuras 3 y 4).

La muestra poblacional utilizada se distribuye por *estado civil* considerando las posibilidades de *soltero, casado, separado/divorciado, viudo, desconocido* de la siguiente forma

Nº de casos.

Tabla 5.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>soltero</i>	152	66	86
<i>casado</i>	40	19	21
<i>separado</i>	12	6	6
<i>viudo</i>	1		1
<i>descon.</i>	16	12	4

Porcentaje.

Tabla 6.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>soltero</i>	68,8	64,1	72,9
<i>casado</i>	18,1	18,4	17,8
<i>separado</i>	5,4	5,8	5,1
<i>viudo</i>	0,5	0,0	0,8
<i>descon.</i>	7,2	11,7	3,4

Porcentaje válido.

Tabla 7.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>soltero</i>	74,1	72,5	75,4
<i>casado</i>	19,5	20,9	18,4
<i>separado</i>	5,9	6,6	5,3
<i>viudo</i>	0,5	0,0	0,9

Figura 3. Distribución por estado civil. Porcentaje.

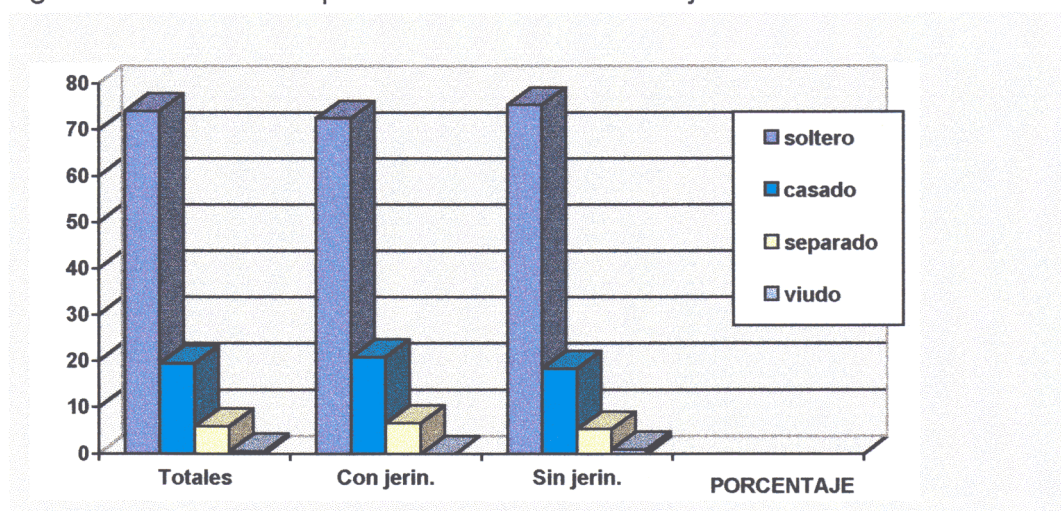
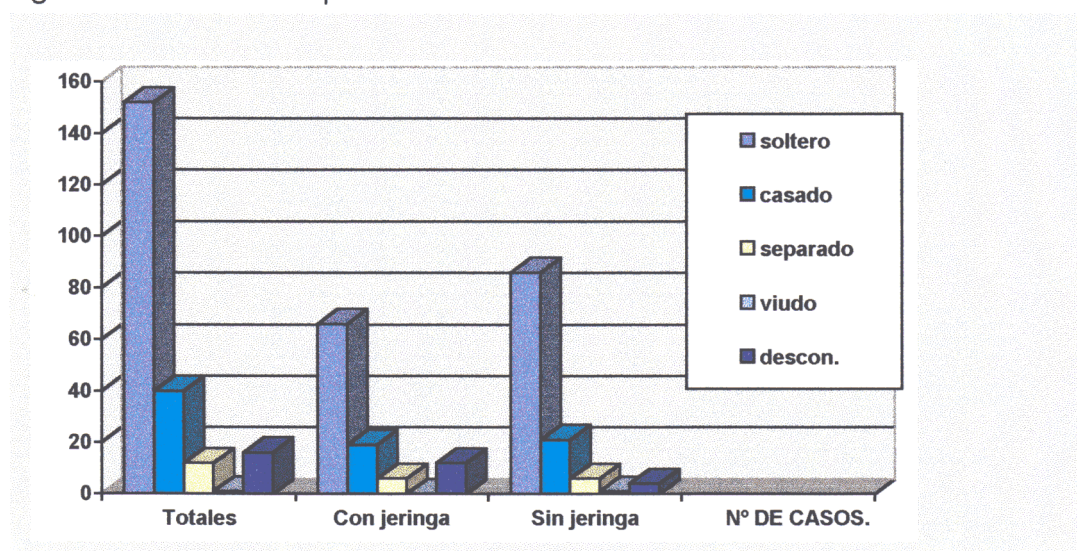


Figura 4. Distribución por estado civil. Frecuencia.



3.1.2.3 Edad. (Tablas 8 a 10)

Esta variable no se ajusta a la distribución normal y se puede describir según las siguientes tablas:

Tabla 8.

CON JERINGA				
Edad	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo
	30	31	20	54
	Recorrido	Nº casos	Pc. 2,50	Pc. 5,00
	34	103	21,6	22,2
Pc. 25,00	Pc. 50,00	Pc. 75,00	Pc. 95,00	Pc. 97,50
27	30	33	42	46,4

Tabla 9.

SIN JERINGA				
Edad	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo
	30	28	19	60
	Recorrido	Nº casos	Pc. 2,50	Pc. 5,00
	41	117	20,9	21,9
Pc. 25,00	Pc. 50,00	Pc. 75,00	Pc. 95,00	Pc. 97,50
26,5	30	34	42,1	52,1

Comparación de medias independientes entre variables que no se ajustan a la normal .

Tabla 10.

Prueba de Mann-Whitney	
Compara entre CON/SIN JERINGA	
Edad	$p = 0,849$

3.1.2.4 Data de la muerte. (Tablas 11 a 14)

Es el tiempo transcurrido entre el fallecimiento y el momento de la autopsia judicial, se ha medido en horas.

Prueba de ajuste a distribución normal :

Tabla 11.

Prueba de Kolmogorov.		
	Con jeringa	Sin jeringa
Data muerte	$p=0,013$	$p=0,129$

Descriptiva de Data de muerte.

Tabla 12.

CON JERINGA				
Data muerte	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo
	22	24	3	99
	Recorrido	Nº casos	Pc. 2,50	Pc. 5,00
	96	79	4	6
Pc. 25,00	Pc. 50,00	Pc. 75,00	Pc. 95,00	Pc. 97,50
14	22	32	72	99

Tabla 13.

SIN JERINGA				
	Media	Error est.	Desviac. est.	Nº casos
Data muerte	21,4	1,20	11,4	91

Comparación de medias independientes entre variables que no se ajustan a la normal .

Tabla 14.

Prueba de Mann-Whitney	
Compara entre CON/SIN JERINGA	
Data de la muerte	$p = 0,262$

3.1.3 Antecedentes de dependencia a drogas.

3.1.3.1 Droga preferente. (Tablas 15 a 17, figuras 5 y 6)

Entendemos por droga preferente aquélla que se consume de forma principal atendiendo a la cantidad, frecuencia, antigüedad, etc.

Se ha distinguido entre: *heroína*, *cocaína*, *politoxicomanía* y *desconocida*.

Se utiliza *politoxicomanía* cuando no se puede establecer una concreta sustancia de consumo preferente entre las que se ofrecen, o bien existe el convencimiento que son varias las drogas habitualmente consumidas.

La población utilizada se distribuye de la siguiente forma:

Nº de casos

Tabla 15.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>politoxicom.</i>	50	24	26
<i>heroína</i>	98	49	49
<i>cocaína</i>	8	3	5
<i>descon.</i>	65	27	38

Porcentaje.

Tabla 16.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>politoxicom.</i>	22,6	23,3	22,0
<i>heroína</i>	44,3	47,6	41,5
<i>cocaína</i>	3,6	2,9	4,2
<i>descon.</i>	29,4	26,2	32,2

Porcentaje válido.

Tabla 17.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>politoxicom.</i>	32,1	31,6	32,5
<i>heroína</i>	62,8	64,5	61,3
<i>cocaína</i>	5,1	3,9	6,3

Figura 5. Distribución por droga preferente. Frecuencia.

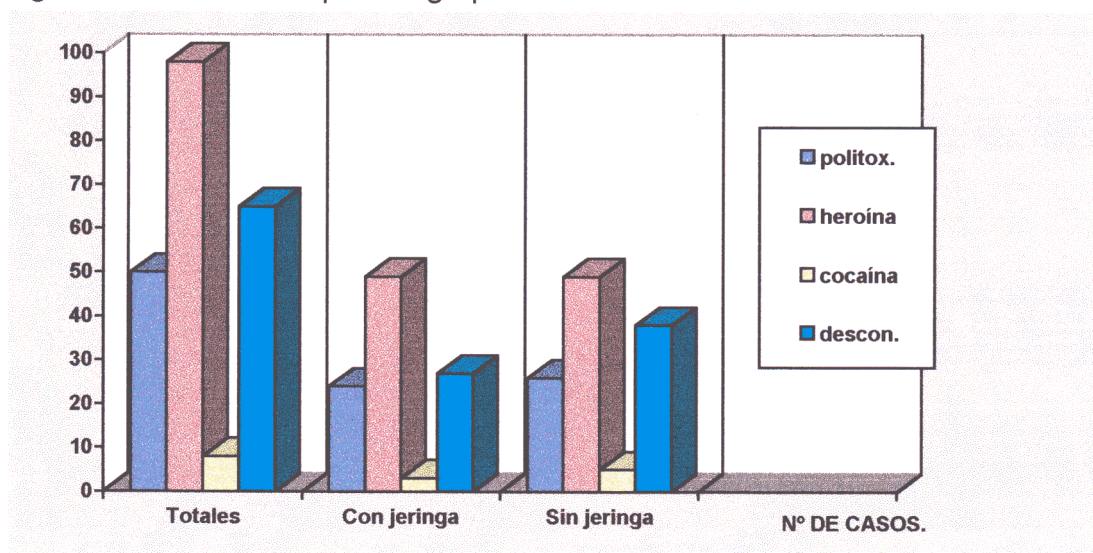
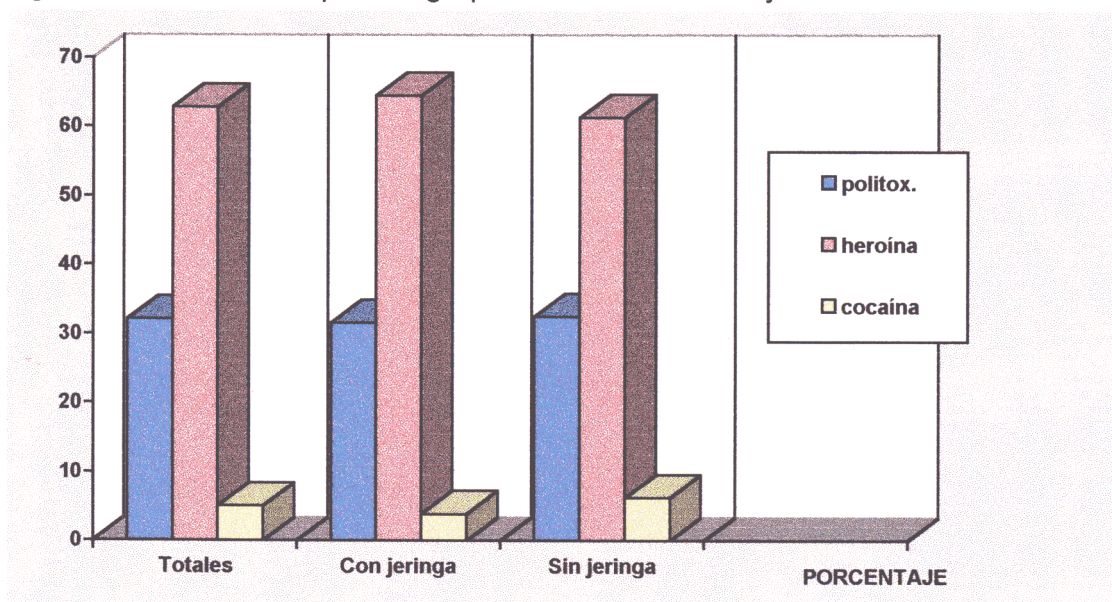


Figura 6. Distribución por droga preferente. Porcentaje.



3.1.3.2 Vía de administración. (Tablas 18 a 21, figuras 7 y 8).

Se ha recogido la vía de administración habitual en base a la entrevista con las personas del entorno del fallecido y los antecedentes clínicos.

Distinguimos : *intravenosa, fumada, esnifada, desconocida*.

El grupo con el que hemos trabajado se distribuye según este factor de la siguiente forma:

Nº de casos.

Tabla 18.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>intraven.</i>	107	61	46
<i>fumada</i>	6	3	3
<i>esnifada</i>	14	4	10
<i>descon.</i>	94	35	59

Porcentaje.

Tabla 19.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>intraven.</i>	48,4	59,2	39
<i>fumada</i>	2,7	2,9	2,5
<i>esnifada</i>	6,3	3,9	8,5
<i>descon.</i>	42,5	34	50

Porcentaje válido.

Tabla 20.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
<i>intraven.</i>	84,3	89,7	78
<i>fumada</i>	4,7	4,4	5,1
<i>esnifada</i>	11,0	5,9	16,9

Figura 7. Distribución por vía de administración. Frecuencia.

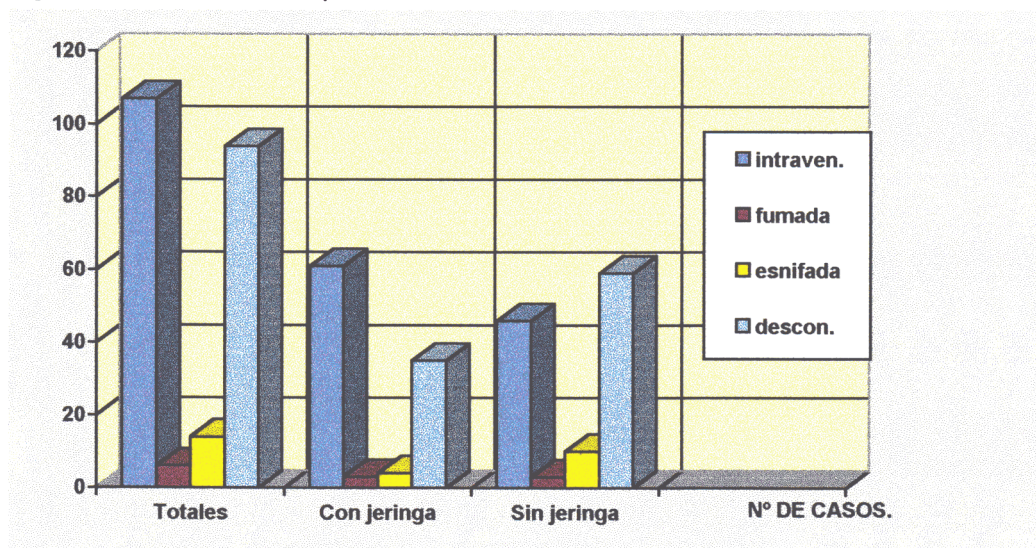
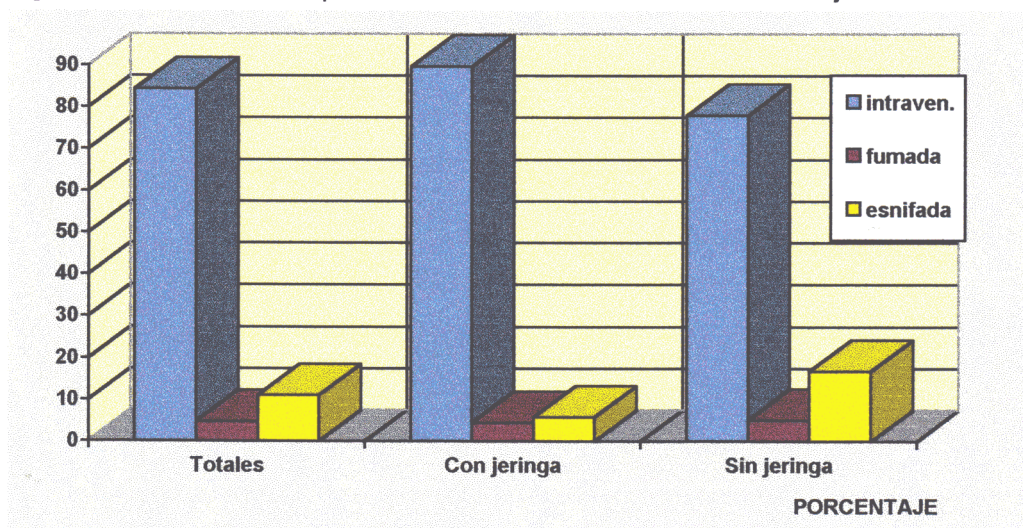


Figura 8. Distribución por vía de administración. Porcentaje.



Comparación de proporciones :

Vía administración *intravenosa*.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	68	61
Sin jeringa	59	46

$p = 0,072$

Tabla 21.

3.1.3.3 Lugar de tratamiento deshabitador. (Tablas 22 a 27, figuras 9 y 10)

La población objeto de estudio se diversifica según esta variable en:

Nº de casos.

Tabla 22.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
CAT/CAD	51	23	28
granja	28	21	7
Patriarca	12	5	7
Pr.Hombre	16	14	2
Remar	7	3	4
cárcel	6	3	3
psiquiátr.	1	0	1
ninguno	31	4	27
descon.	69	30	39

Porcentaje.

Tabla 23.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
CAT/CAD	23,1	22,3	23,7
granja	12,7	20,4	5,9
Patriarca	5,4	4,9	5,9
Pr.Hombre	7,2	13,6	1,7
Remar	3,2	2,9	3,4
cárcel	2,7	2,9	2,5
psiquiátr.	0,5	0	0,8
ninguno	14	3,9	22,9
descon.	31,2	29,1	33,1

Porcentaje válido.

Tabla 24.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
CAT/CAD	33,6	31,5	35,4
granja	18,4	28,8	8,9
Patriarca	7,9	6,8	8,9
Pr.Hombre	10,5	19,2	2,5
Remar	4,6	4,1	5,1
cárcel	3,9	4,1	3,8
psiquiátr.	0,7	0	1,3
ninguno	20,4	5,5	34,2

Figura 9. Distribución por lugar de tratamiento deshabitador. Frecuencia.

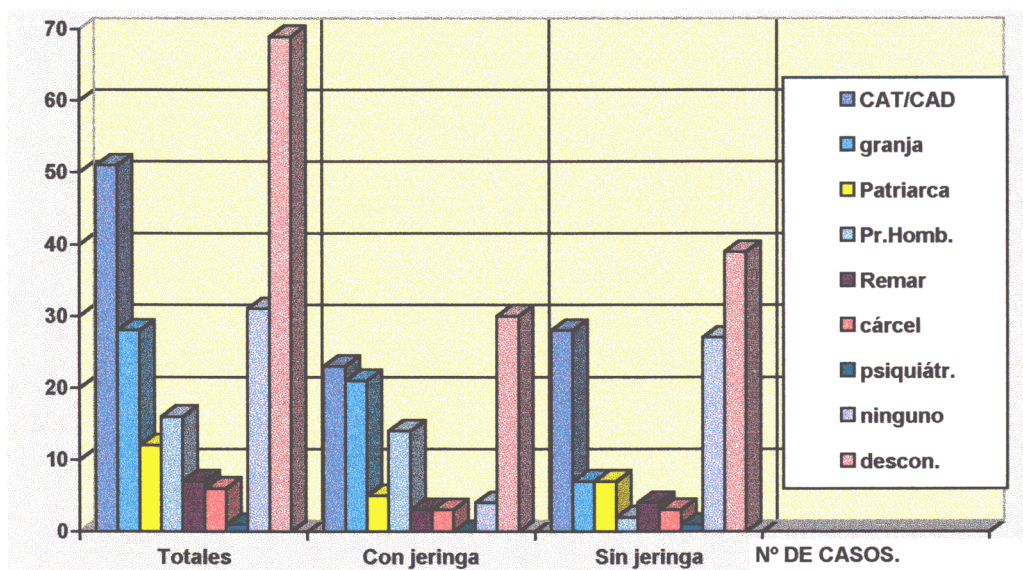
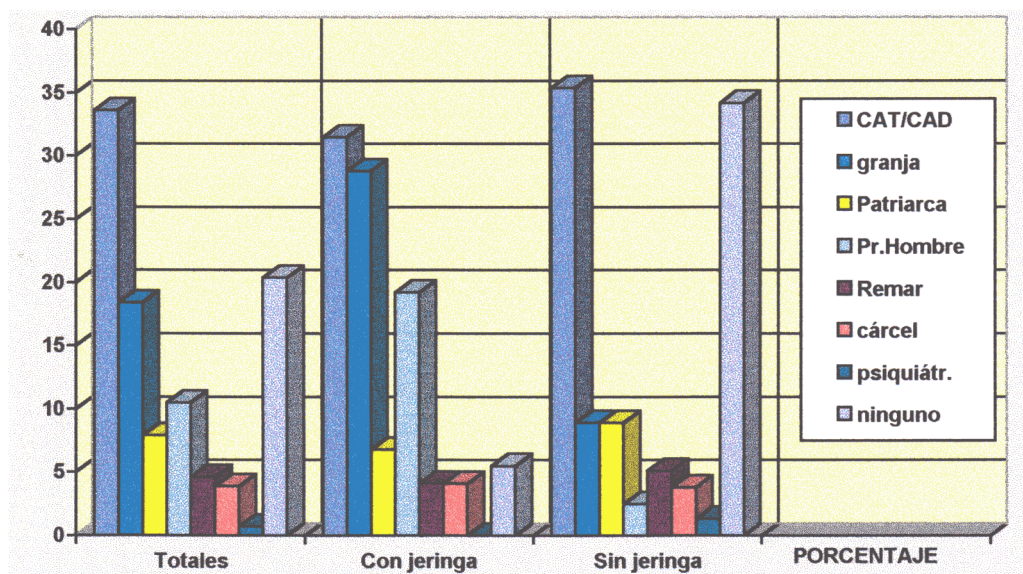


Figura10. Distribución por lugar de tratamiento deshabitador. Porcentaje.



Comparación de proporciones :Lugar de tratamiento **CAT/CAD.**

Tabla 25.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	73	23
Sin jeringa	79	28

p= 0,607Lugar de tratamiento **granja.**

Tabla 26.

	C. Válidos	Frecuencia
Con jeringa	73	21
Sin jeringa	79	7

p= 0,001Lugar de tratamiento **ninguno.**

Tabla 27.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	73	4
Sin jeringa	79	27

p<0,001

3.1.3.4 Antecedentes médicos : hepatitis, SIDA. (Figuras 11 a 14, tablas 28 y 29).

A través de la entrevista con familiares y personas del entorno del fallecido se ha podido obtener información sobre antecedentes médicos relacionados con infecciones de hepatitis y SIDA. También los documentos clínicos aportados por el médico forense nos han permitido conocer estos padecimientos.

Los resultados se muestran en las siguientes figuras:

Figura 11. Antecedentes de SIDA. Frecuencia.

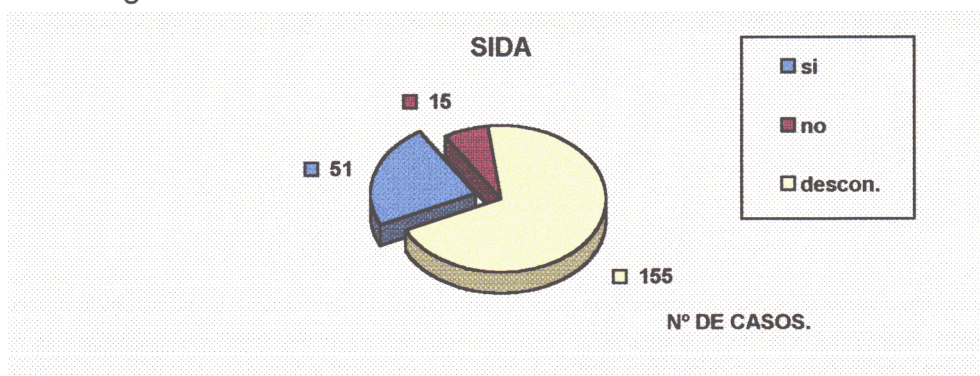
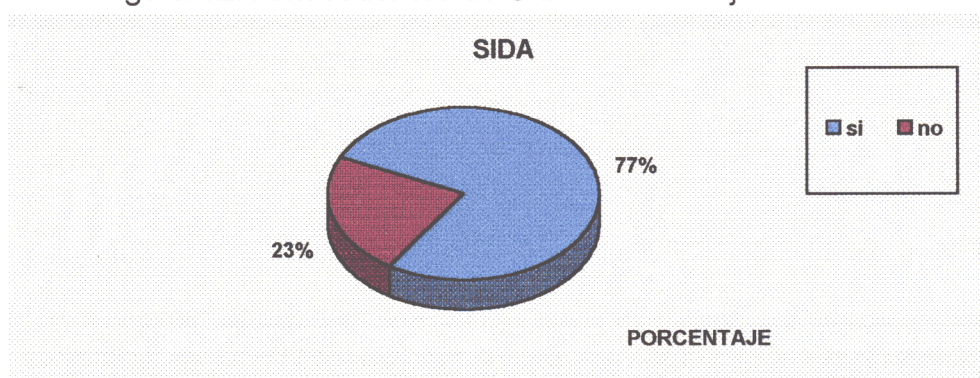


Figura 12. Antecedentes de SIDA. Porcentaje.



La hepatitis sigue una distribución similar:

Figura 13. Antecedentes de hepatitis. Frecuencia.

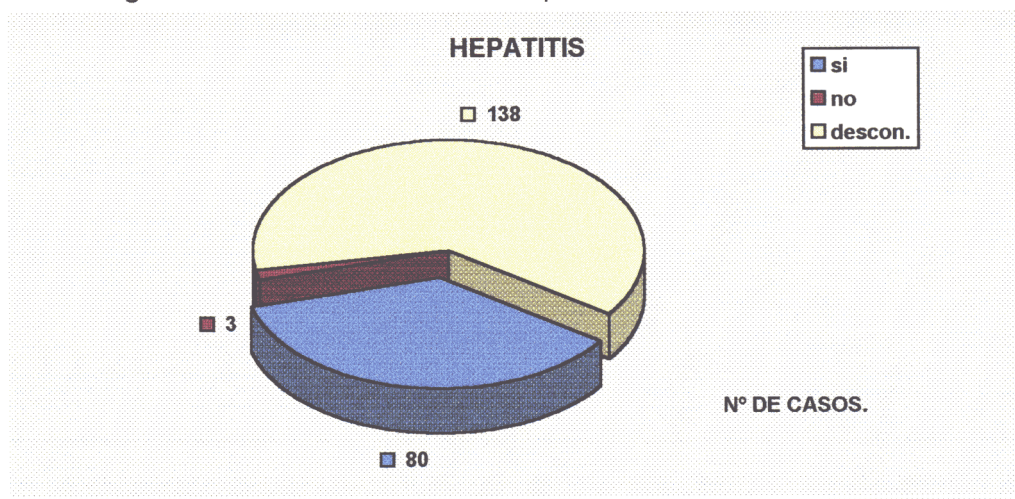
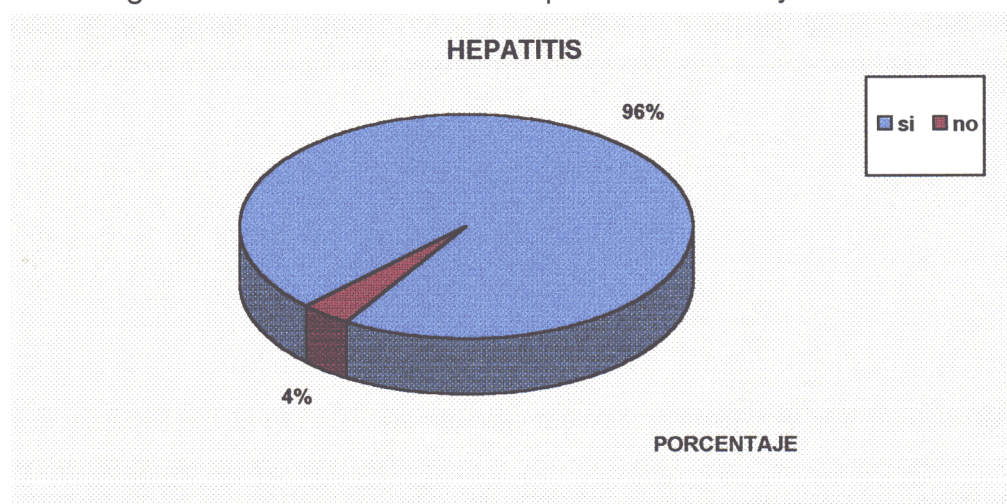


Figura 14. Antecedentes de hepatitis. Porcentaje.



Distribución por **antecedentes de SIDA** :

Tabla 28.

TOTALES			
	Frecuencia	Porcentaje	Porc. Válido
SI	51	32,1	77,3
NO	15	6,8	22,7
DESCON.	155	70,1	
CON JERINGA			
SI	19	18,4	76
NO	6	5,8	24
DESCON.	78	75,7	
SIN JERINGA			
SI	32	27,1	78
NO	9	7,6	22
DESCON.	77	65,3	

Distribución por **antecedentes de hepatitis** :

Tabla 29.

TOTALES			
	Frecuencia	Porcentaje	Porc. Válido
SI	80	36,2	96,4
NO	3	1,4	3,6
DESCON.	138	62,4	
CON JERINGA			
SI	38	36,9	100
NO	0	0	
DESCON.	65	63,1	
SIN JERINGA			
SI	42	35,6	93,3
NO	3	2,5	6,7
DESCON.	73	61,9	

3.1.4 Datos médico-forenses.

3.1.4.1 Procedencia del cadáver. (Tablas 30-34, figuras 15 y 16).

Todos los cadáveres utilizados en el trabajo proceden del partido judicial de Madrid, se trata de un criterio general de inclusión. Cuando aquí se valora la procedencia nos referimos al tipo de lugar en dónde se encontró el cadáver y se hizo le diligencia de *levantamiento del cadáver*.

Frecuencia. Tabla 30.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
calle	112	62	50
casa	96	35	61
hospital	4	2	2
cárcel	2	1	1
descon.	7	3	4

Porcentaje. Tabla 31.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
calle	50,7	60,2	42,4
casa	43,4	34	51,7
hospital	1,8	1,9	1,7
cárcel	0,9	1	0,8
descon.	3,2	2,9	3,4

Porcentaje válido. Tabla 32.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
calle	52,3	62	43,9
casa	44,9	35	53,5
hospital	1,9	2	1,8
cárcel	0,9	1	0,9

Comparación de proporciones.

Procedencia del cadáver *calle*. Tabla 33.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	100	62
Sin jeringa	114	50

$p = 0,007$

Procedencia del cadáver *casa*. Tabla 34.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	100	35
Sin jeringa	114	61

$p = 0,006$

Figura 15. Distribución por procedencia del cadáver. Frecuencia.

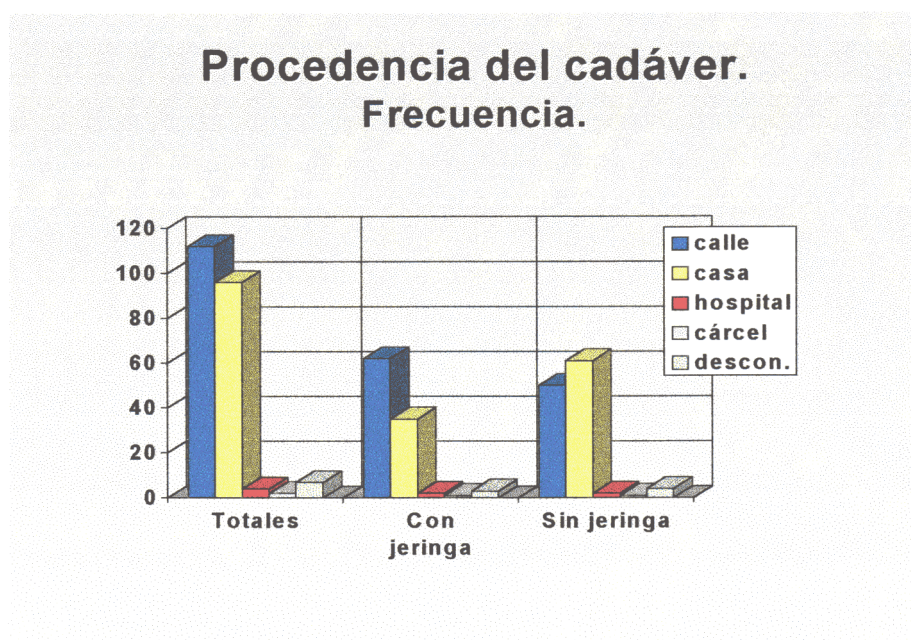
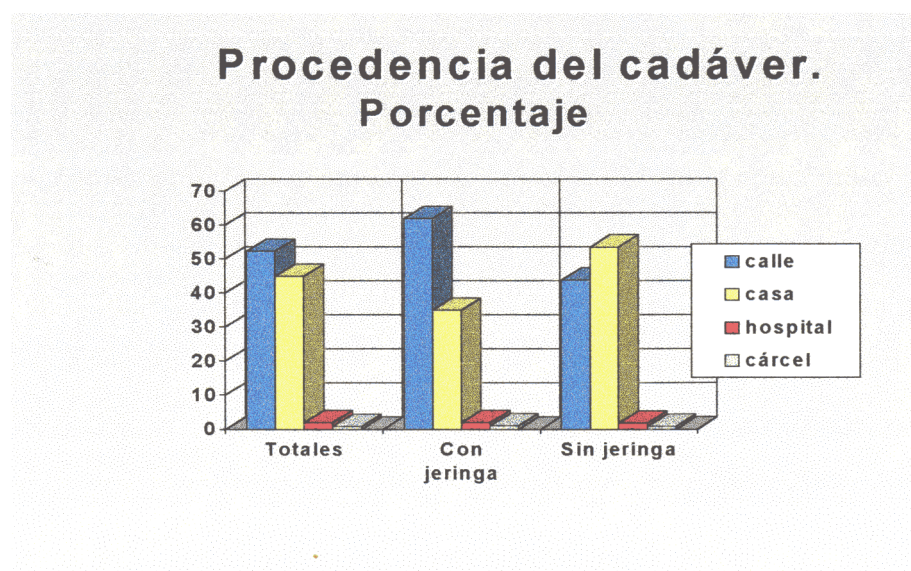


Figura 16. Distribución por procedencia del cadáver. Porcentaje.



3.1.4.2 Etiología médico-legal. (Tablas 35 a 37 y figura 17)

Las formas médico-legales de muerte violenta son clásicamente distribuidas en tres categorías : *homicida*, *suicida* y *accidental*.

Frecuencia.

Tabla 35.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
accidental	215	100	115
suicida	2	1	1
homicida	2	0	2
otros	2	2	0

Porcentaje.

Tabla 36.

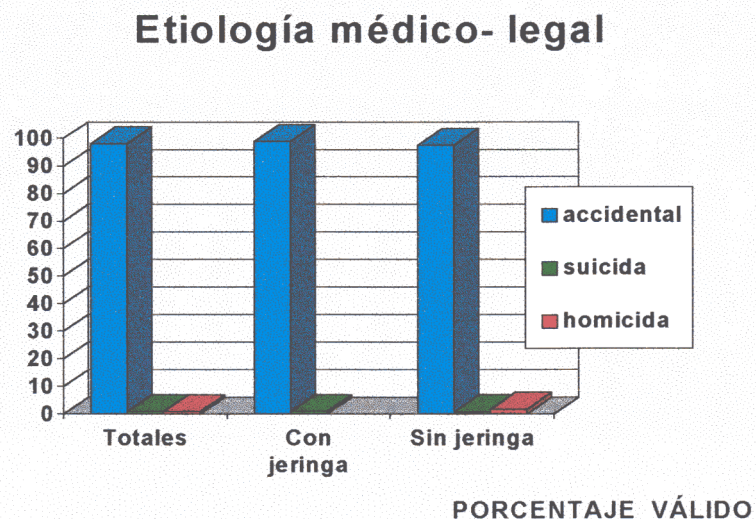
	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
accidental	97,3	97,1	97,5
suicida	0,9	1	0,8
homicida	0,9	0	1,7
otros	0,9	1,9	0

Porcentaje válido.

Tabla 37.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
accidental	98,2	99	97,5
suicida	0,9	1	0,8
homicida	0,9	0	1,7

Figura 17. Distribución por etiología médico-legal.



3.1.4.3 Causa fundamental de la muerte. (Tablas 38 a 42 y figura 18).

Se consideran cuatro categorías en los diagnósticos necrópsicos de *causa de muerte fundamental*.

La causa *sobredosis*, como expresión de una administración excesiva de droga, es diferenciada por los médicos forenses de la *Reacción Adversa por Drogas de Abuso RADA* en la que la administración de la sustancia no se considera que se haya producido en cantidad superior a lo habitual.

La categoría *otras* reúne diversos diagnósticos necrópsicos siempre relacionados directamente con el consumo de drogas de abuso (p.e. : "fracaso multiorgánico relacionado con el consumo de drogas").

Frecuencia. Tabla 38.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	42	41	1
sobredosis	156	54	102
otros	17	8	9
descon.	6	0	6

Porcentaje. Tabla 39.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	19,0	39,8	0,8
sobredosis	70,6	52,4	86,4
otros	7,7	7,8	7,6
descon.	2,7	0	5,1

Porcentaje válido. Tabla 40.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	21,2	43,2	1
sobredosis	78,8	56,8	99

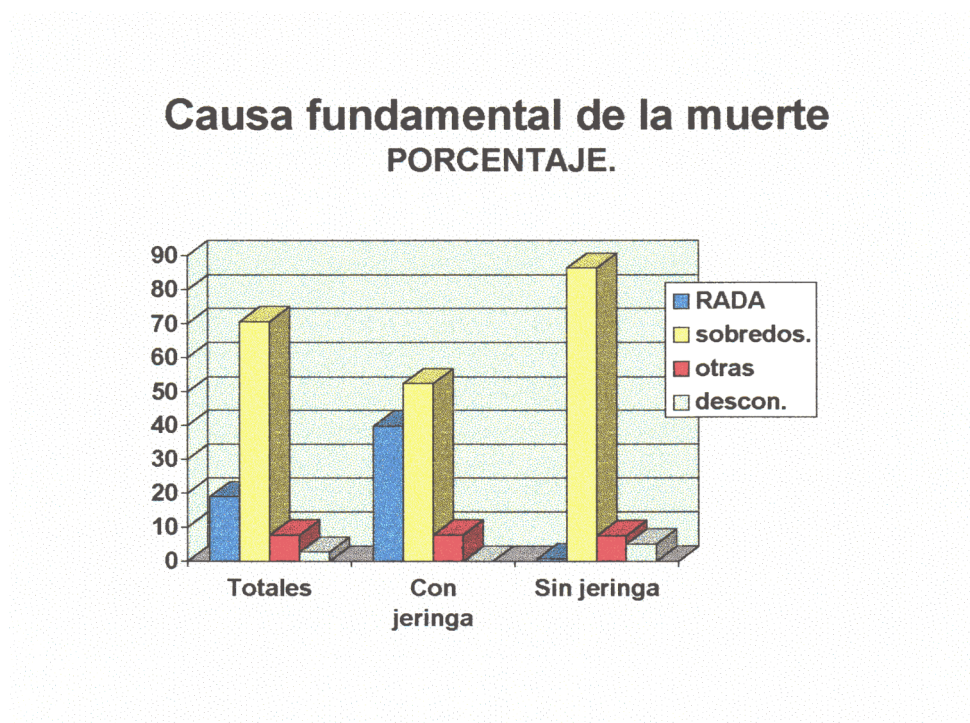


Figura 18.

Comparación de proporciones.Causa fundamental **RADA**.

	C. Válidos	Frecuencia
Con jeringa	95	41
Sin jeringa	103	1

$p < 0,001$

Tabla 41.

Causa fundamental **sobredosis**.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	95	54
Sin jeringa	103	102

$p < 0,001$

Tabla 42.

3.1.4.4. Causa inmediata de la muerte. (Tablas 43 a 47 y figuras 19 y 20).

Hemos distinguido seis causas distintas, según los diagnósticos aportados por los médicos forenses en el correspondiente expediente de cada caso :

Reacción Adversa a Drogas de Abuso (RADA).

Parada Cardio-Respiratoria (PCR).

Edema Agudo de Pulmón (EAP).

Insuficiencia Cardio-Respiratoria (ICR).

Shock Tóxico (ST).

Otros.

Los casos estudiados aquí se estructuran de la siguiente forma, según las categorías de **causa inmediata de la muerte** :

Frecuencia.

Tabla 43.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	27	19	8
PCR	118	54	64
EAP	33	16	17
ICR	30	11	19
ST	4	3	1
otros	9	0	9

Porcentaje.

Tabla 44.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	12,2	18,4	6,8
PCR	53,4	52,4	54,2
EAP	14,9	15,5	14,4
ICR	13,6	10,7	16,1
ST	1,8	2,9	0,8
otros	4,1	0	7,6

Porcentaje válido.

Tabla 45.

	Totales	Con jeringa	Sin jeringa
RADA	12,7	18,4	7,3
PCR	55,7	52,4	58,7
EAP	15,6	15,5	15,6
ICR	14,2	10,7	17,4
ST	1,9	2,9	0,9

Figura 19.

Causa inmediata de la muerte. (Frecuencia)

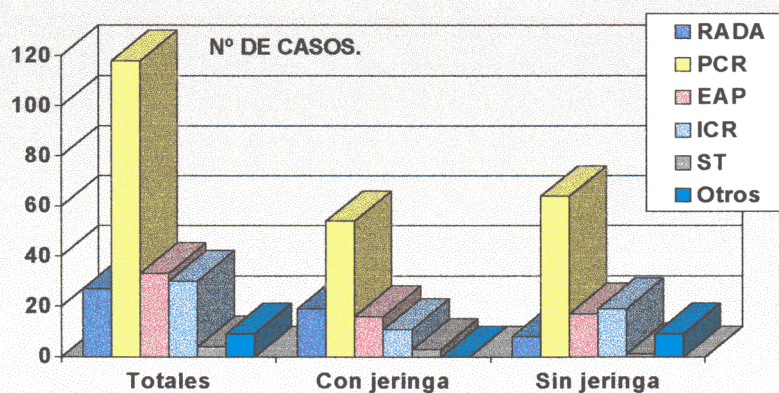
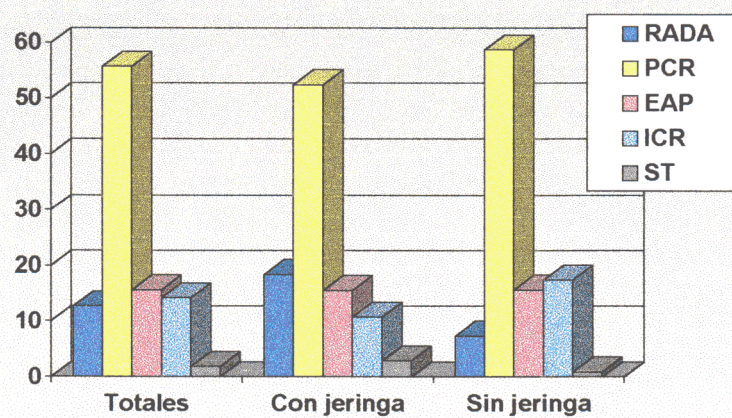


Figura 20.

Causa inmediata de la muerte. (Porcentaje válido)



Comparación de proporciones.

Causa inmediata de la muerte **RADA**.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	103	19
Sin jeringa	109	8

p= 0,015

Tabla 46.

Causa inmediata de la muerte **EAP**.

	C.Válidos	Frecuencia
Con jeringa	103	16
Sin jeringa	109	17

p= 0,990

Tabla 47.

3.1.5 Protocolo de recogida de datos.

Se elaboró una ficha en la que se recogen los datos y resultados de análisis toxicológicos de los cadáveres.

FICHA DE RECOGIDA DE DATOS.

1.- Datos generales.

nº identificación :

edad: sexo: estado civil:

autopsia - fecha : / / /, hora :

data de la muerte (expresada en horas) :

2.- Antecedentes de dependencia a drogas.

- antigüedad de consumo/dependencia (expresada en años):

- droga preferente:

 heroína (), cocaína (), politoxicomanía (),
desconocida ().

- vía de administración habitual:

 intravenosa (), fumada (), sniffada (), desconocida ().

- lugar en dónde ha seguido tratamiento deshabitador:

 CAT-CAD (), granja (), "Patriarca" (), "Proyecto
Hombre" (), "Remar" (), cárcel (), psiquiátrico-otros (),
no ha seguido ningún tratamiento deshabitador ().

- tiempo total de abstinencia (expresado en meses) :

- antes de fallecer llevaba en abstinencia (expresar en días) :

- antecedentes de SIDA (incluidos portadores de Ac) :

 si (), no (), desconocido ().

- antecedentes de hepatitis (cualquiera de sus formas) :

 si (), no (), desconocido ().

*Nota : en aquéllas cuestiones que tengan varias opciones de
respuesta sólo se podrá señalar una de ellas, la que sea preferente.*

3.- Datos médico-forenses.

- fallecimiento - fecha : / / , hora :
- procedencia del cadáver (lugar del “levantamiento”) :
calle (), domicilio (), centro sanitario (),
centro penitenciario (), desconocido ().
- hallazgos en el lugar del “levantamiento”:
 - jeringa inyectada en el cadáver : si (), no ().
 - material de preparación de inyección : si (), no ().
- etiología médico-legal de la muerte :
accidental (), suicida (), homicida (), desconocida ().
- causa fundamental de la muerte :
RADA (), “sobredosis” (), otras ().
- causa inmediata de la muerte :
RADA (), PCR (), EAP (), ICR (),
Shock tóxico (), IAM (), otras ().

4.- Datos analíticos toxicológicos. (Tabla 48)

	sangre	orina	jeringuilla
anfetamina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
benzoilecgonina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
cafeína	ug/ml	ug/ml	ug/dl
carbamacepina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
cocaína	ug/ml	ug/ml	ug/dl
codeína	ug/ml	ug/ml	ug/dl
fluracepam	ug/ml	ug/ml	ug/dl
fluracepam metabolito	ug/ml	ug/ml	ug/dl
monoacetil-6-morfina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
morfina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
noscapina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
oxicodona	ug/ml	ug/ml	ug/dl
papaverina	ug/ml	ug/ml	ug/dl
propoxifeno	ug/ml	ug/ml	ug/dl
propoxifeno metabolito	ug/ml	ug/ml	ug/dl
		positivo	negativo
Ac. VIH 1-VIH 2 en HV			
alcoholemia			g/l

3.1.6 Material de laboratorio.

3.1.6.1 Reactivos.

Se han utilizado los siguientes reactivos químicos:

a.- Reactivos generales:

- 1- Propanol, pureza HPLC, de Panreac Química SA.
- 2- Propanol, pureza HPLC, de Panreac Química SA.
- Acetato de etilo, pureza HPLC, de Panreac Química SA.
- Acetona para análisis de Panreac Química SA.
- Ácido acético de Panreac Química SA, en solución 0,01 M.
- Ácido acético glacial 100% para análisis de Merck.
- Agua bidestilada.
- Amoniaco para análisis (NH_3 al 25%) de Panreac Química SA.
- Buffer acetato de pH 5,2.
- Buffer fosfato de pH 6.
- Cloroformo para análisis de Panreac Química SA.
- Enzima β -glucuronidasa aril-sulfasa de Merck.
- Etanol absoluto para análisis de Panreac Química SA.
- Fosfato potásico monobásico para análisis de Panreac Química SA.
- Hidróxido potásico, solución 1 M, de Panreac Química SA.
- Metanol, pureza HPLC, de Panreac Química SA.
- Nitrógeno C-50 de Carburos Metálicos.
- Triclorometano estabilizado con etanol para análisis instrumental de Panreac Química SA.

b.- Reactivos específicos para instrumentos analíticos.

1. TRIAGE™⁸ de Merck®.

Test inmunológico de anticuerpos monoclonales¹⁰⁹.

Reactivos para este test :

- Pipeta 100 μl .
- Solución de lavado, 8 ml de Merck®.
- Test cassette de Merck®-Biosite Diagnostics.

Se trata de un test en forma de cassette no automatizado en el que se puede realizar el screening simultáneo de ocho grupos de sustancias (opiáceos, cocaína, benzodiacepinas, antidepresivos tricíclicos, anfetaminas, metadona, barbituratos, y tetrahydrocannabinoles), que no necesita condiciones de refrigeración y en el que es el propio analista el que lee el resultado por la visión de bandas, de forma que, si en la muestra analizada está presente alguna de estas sustancias aparece una banda coloreada en la zona correspondiente, y en caso de no existir, no se observaría dicha banda.

***Principio del análisis:**

Consiste en una técnica presuntiva en la que los reactivos se encuentran liofilizados en una cavidad, en la que se añadirá la muestra objeto de estudio y pasados 10 minutos que son los necesarios para alcanzar el equilibrio de la reacción, se traspasará la mezcla de reacción a una fase sólida en la que se encuentran inmovilizados los anticuerpos en zonas específicas según el grupo de drogas.

En la cavidad existen 3 bolas de distintos colores, que son:

- buffer, para mantener el pH de la reacción entre 7,5 y 8,5.
- anticuerpos monoclonales específicos para las drogas de estudio.
- drogas marcadas procedentes de suero bovino.

Los anticuerpos para la detección se encuentran inmovilizados en una membrana de nylon. (fase sólida mencionada anteriormente)

Los reactivos liofilizados son disueltos y mezclados con la muestra problema por efervescencia. La reacción inmunológica alcanza el equilibrio a los 10 minutos de la incubación.

Cuando la droga marcada está presente en la muestra, ésta compete con la droga marcada por los sitios de unión específicos del Ac, al alcanzar el equilibrio una proporción de droga conjugada permanece libre, que al pasarla sobre la fase sólida, reaccionará con Ac inmovilizados en la zona específica, apareciendo una banda coloreada.

Si el tiempo de incubación no hubiese sido el suficiente o existiese algún otro problema, aparecería una banda en el control negativo, y la lectura del test quedaría invalidada, mientras que siempre que aparece la banda coloreada en el control positivo la lectura es válida.

Este test se acompaña de una solución de lavado para que la lectura resulte más clara.

La cantidad de muestra que es introducida en la cavidad es medida con una pipeta que suministra la casa comercial, con una capacidad para 100 µl.

Hay que destacar que este test está desarrollado para trabajar con muestras de orina, aunque en nuestra práctica es útil para otros fluidos biológicos (humor vítreo, extractos de sangre).

2. EMIT™ - Syva®.

- Calibrator A, level 1 (cutoff).
- Calibrator A, level 2 (high).
- Calibrator B, level 1 (cutoff).
- Calibrator B, level 2 (high).
- Calibrator EMIT® Tox™ serum tricyclic antidepressants.
- EMIT®. dau barbiturate antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau barbiturate enzyme reagent B.
- EMIT®. dau benzodiazepine antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau benzodiazepine enzyme reagent B.
- EMIT®. dau cocaine metabolite antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau cocaine metabolite enzyme reagent B.
- EMIT®. dau methadone antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau methadone enzyme reagent B.
- EMIT®. dau monoclonal amphetamine/methamphetamine antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau monoclonal amphetamine/methamphetamine enzyme reagent B.
- EMIT®. dau opiate antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau opiate enzyme reagent B.
- EMIT®. dau propoxyphene antibody/sustrate reagent A.
- EMIT®. dau propoxyphene enzyme reagent B.

- EMIT® Tox™ serum tricyclic antidepressants antibody/substrate reagent A.
- EMIT® Tox™ serum tricyclic antidepressants enzyme reagent B.
 - Positive control EMIT® Tox™ serum tricyclic antidepressants.
 - Tris buffer - Drug Assay Buffer Concentrate.

3. ADX™ SYSTEM REA de Abbott®

- Calibrators REA® Ethanol, de 0, 25, 50, 100, 200 y 300 mg/dl.
- Controls REA® Ethanol Whole Blood de 50, 100 y 150 mg/dl.
 - Dilution Buffer con 950 ml.
 - Ethanol Reagent Pack de Abbott.
 - Reactivo P de Abbott®.
 - Reactivo S de Abbott®.
 - Reactivo T de Abbott®.

4. REMEDI HS™ - Drug Profiling System de Bio-Rad®.

- Application buffer con 2,5 l de Bio-Rad®
- Check mix, 10 ml de Bio-Rad®
- Exchange buffer con 940 ml de Bio-Rad®
- Internal standard combination, 10 ml de Bio-Rad®
- Internal standard diluent, 75 ml de Bio-Rad®
- Mobile phase con 3,8 l de Bio-Rad®
- Transfer buffer con 940 ml de Bio-Rad®
- Wash reagent con 940 ml de Bio-Rad®

5. GAS CHROMATOGRAPH SYSTEM - MASS SELECTIVE DETECTOR 6890 de Hewlett Packard®.

- 2,2,3,3,3 - pentafluoropropanol de Sigma Aldrich®.
- Anhídrido pentafluoro propiónico de Sigma Aldrich®.
- BSTFA : bis (trimethylsilyl)-trifluoroacetamida de Merck®.
- Helio C-50 de Carburos Metálicos.
- TMCS : Clorotrimetilsilano de Merck®.

6. GAS CHROMATOGRAPH 3920 B - HEADSPACE SAMPLER
HS-40 de Perkin Elmer®.

- Aire comprimido de Carburos Metálicos.
- Calibrators REA® Ethanol, de 0, 25, 50, 100, 200y 300 mg/dl.
- Controls REA® Ethanol Whole Blood de 50, 100 y 150 mg/dl.
- Helio C-50 de Carburos Metálicos.
- Hidrógeno C-50 de Carburos Metálicos.

7. TEST PACK de Abbott®, Immediate Care Diagnostics™,
HIV1/HIV2.

- Control negativo (0,5 ml) plasma humano sin reactividad HBsAg, ni anti-VIH-1/VIH-2, ni anti-VHC.
- Control positivo (0,5 ml) plasma humano inactivado con reactividad anti-VIH-1 y sin reactividad HBsAg ni anti-VHC. Título mínimo 1:2.
- Disco de reacción con micropartículas recubiertas de antígeno VIH-1/VIH-2 (rDNA).
- Reactivo A (10 ml) : tris y suero de cabra. Azida sódica.
- Reactivo B (8 ml) : proteínas de *E. Coli* y detergente Tween-20.
- Reactivo C (24 ml) : clorhidrato de guanidina (1,2 mol/l) tamponado con citrato sódico (1,0 mol/l) y agentes antimicrobianos.
- Reactivo D (8 ml) : anticuerpos de cabra frente a las IgG humanas:fosfatasa alcalina en estabilizantes de proteínas con suero de cabra.
- Reactivo E (45 ml) igual composición que el reactivo C.
- Reactivo F (6,5 ml) : cromógeno 0,01%. Azida sódica.
- Reactivo G (45 ml) : citrato sódico (1,0 mol/l) y agentes antimicrobianos.

3.1.6.2 Material fungible.

Se trata de material no perdurable imprescindible en el manejo y elaboración de las muestras toxicológicas y que no es incluible entre los reactivos.

a.- General.

- Aguja (0,8 por 40 mm) de Microlance 3.
- Cápsulas porcelana de desecación (20 ml).
- Cartridges Sep-Pack® Vac Rc (500 mg) C₁₈, Waters™.
- Jeringas plastipack (5 y 10 ml) de Becton Dickinson.
- Pipetas de pvc graduadas (3 ml).
- Pipetas pasteur vidrio (long. 5 3/4") de Chase Instruments.
- Puntas pipeta desechables de 100, 200, 300 µl.
- Tubos K3 EDTA - EUROTUBO® (5 ml).
- Tubos y tapones con rosca de pvc (5 y 10 ml).

b.- Material fungible específico para instrumentos analíticos.

1. EMIT™ - Syva®.

- Multicubetas de 24 posiciones.
- Pocillos para muestra de 1,5 ml.

2. ADX™ SYSTEM REA de Abbott®.

- Cuvettes X- System™.
- Sample cartridges X- System™.

3. REMEDI HS™ - Drug Profiling System de Bio-Rad®.

- Anion Exchange Cartridge Remedi™ DPS.
- Eppendorf con 1,5 ml de Safe -Lock con cierre de seguridad.
- Filter Remedi™.
- Mobile Fase Saturador Cartridge Remedi™.
- Purification Cartridge Remedi™ DPS.
- Separation Cartridge 1 Remedi™.
- Separation Cartridge 2 Remedi™.

4. GAS CHROMATOGRAPH SYSTEM - MASS SELECTIVE DETECTOR 6890 de Hewlett Packard®.

- Columna cromatográfica HP - 5MS de 30 metros × 0,25 mm × 0,25 µm. (Crosslinked 5 % PH ME Siloxane).
- Insert 100 µl de Hewlett Packard.
- Target DP™ Caps, T/RR septa, 100/PK de National Scientific Company.
- Target DP™ Vials, C-4000-1W de National Scientific Company.

5. GAS CHROMATOGRAPH 3920 B - HEADSPACE SAMPLER HS-40 de Perkin Elmer®.

- Columna cromatográfica Carbowas 15 % - PE de 2 metros × 1/8" y temperatura máxima de 175° C, de Sugelabor.
- Tapones de caucho y arandelas metálicas para cierre hermético de Chromacol LTD.
- Viales de vidrio con 20 ml.

3.1.6.3 Instrumentación.

Incluyo en esta categoría el material perdurable en forma de instrumentos utilizados en la conservación, preparación de muestras y reactivos, así como los destinados específicamente al análisis toxicológico.

a) Instrumentación general de laboratorio.

- Agitador magnético MC-8 Bunsen.
- Baño de ultrasonidos Branson 1200.
- Baño termostático Bunsen BD.
- Bomba de vacío para extracción SEP-PACK Vacuum Station con 12 posiciones de Millipore Watters Chromatography.
- Campana extractora INDELAB Serie V.
- Centrífuga Biofuge 13 Haereus Sepatech.
- Centrífuga Labofuge 200 Haereus Sepatech.

- Microprocessor pH Meter, pH 537 - WTW.
- Plancha térmica de desecación Sepatech.
- Refrigerador-congelador, de AEG (Santo), hasta -40°C.

b) Instrumentación analítico-toxicológica.

1. EMIT™ - Syva®.

El sistema EMIT™ es un analizador automático para el muestreo predictivo de drogas de abuso^{110,111,112,113}.

El sistema dispensa y mezcla automáticamente muestras, reactivos y tampón, tomando lecturas de la absorbancia fotométrica a intervalos determinados. La computadora del sistema guarda los datos introducidos por el usuario, los procesa e interpreta los resultados.

El usuario puede seleccionar hasta 6 técnicas por muestra que serán efectuadas en modo de batería de muestreo con todo el panel, o en modo de acceso libre. En nuestro caso se hace en modo batería para Opiáceos, Benzodiacepinas, Antidepresivos Tricíclicos, Barbituratos, Anfetaminas, Cocaína, Metadona y Propoxifeno. Se pueden asignar números de identificación para un total de 96 muestras a la vez.

*Principio del análisis :

Las muestras son mezcladas con dos reactivos:

- Reactivo A contiene anticuerpos contra una droga en particular, la coenzima nicotinamida-adenina-dinucleotido (NAD) y un sustrato para la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH)
- Reactivo B contiene un derivado de la droga marcado con la enzima G6P-DH.

Cuando los reactivos se añaden a la muestra, el anticuerpo se une a la droga que reconoce y la droga marcada con la enzima se fija en el resto de lugares de unión de los anticuerpos, disminuyendo la actividad enzimática. Parte de la enzima permanece sin unir, y por tanto, todavía activa en la mezcla de reacción. Esta actividad enzimática residual está relacionada directamente con la concentración de droga presente en la muestra.

La enzima activa convierte el NAD en NADH, resultando un cambio de absorbancia fotométrica. Comparando el cambio producido en un calibrador que contiene una cantidad conocida de droga o metabolito de la droga, se puede determinar la presencia de droga en la muestra.

Se utilizan tres tipos de calibradores para los análisis EMIT™:

- Negativo(Neg), calibrador libre de droga.
- Calibrador Cutoff.
- High, calibrador positivo.

La tasa (rate) de absorbancia del calibrador Cutoff se utiliza como punto de referencia para determinar el resultado de las muestras.

Una muestra se considera positiva si su tasa de absorbancia es igual o superior a la tasa del calibrador Cutoff. Los calibradores negativo y High se determinan como control de calidad para evaluar el buen funcionamiento de los reactivos e instrumento.

*Componentes del sistema.

- Recipiente para fluidos: consta de una botella para el agua destilada y otra para el tampón de los análisis.
- Bomba peristáltica: suministra el agua destilada a la estación de lavado y evacúa el agua sucia al recipiente de desechos.
- Pipeteador: aspira y dispensa los volúmenes apropiados de muestra, reactivos y tampón.
- Brazo de la cánula: transfiere muestras, reactivos y tampón a las cubetas, un electrodo detecta el nivel de los reactivos y las muestras y un calefactor interno regula la temperatura del tampón.

- Compartimento de cubetas: para tiras multicubetas (24 cubetas) situado en un bloque calefactor de temperatura controlada, se desplaza en sentido longitudinal hacia la unidad fotométrica para efectuar la medida de la tasa (rate) de cambio de absorbancia de la mezcla de reacción.

- Fotómetro: el detector mide la cantidad de luz absorbida por la mezcla de reacción. El circuito de la lámpara incorpora un sistema de control del voltaje de 2 niveles para compensar las variaciones en la intensidad de la lámpara y para alargar la vida de la lámpara.

- Impresora: los resultados de los análisis y los parámetros memorizados se imprimen con una matriz de puntos de 20 caracteres por línea.

Antes de comenzar a trabajar se debe realizar una calibración, que sirve para diversos propósitos:

- establecer el incremento de absorbancia "cutoff" para los resultados de las muestras.
- asegurar un buen funcionamiento del aparato y los reactivos.
- efectuar control de calidad.

Durante la calibración el sistema analiza el calibrador Cutoff por duplicado, determinando la tasa de absorbancia de cada análisis. Hace la media y almacena este número como el punto de corte (cutoff), para determinar los resultados de las muestras.

Este proceso se repite para cada técnica de las seleccionadas. Durante el procesamiento de las muestras las que tengan una tasa de absorbancia por debajo del cutoff se consideran negativas, mientras que si la tasa es igual o superior al cutoff se consideran positivas. Los calibradores negativo y high deben ser procesados con el calibrador cutoff para asegurar un adecuado funcionamiento del instrumento y los reactivos. Durante la jornada pueden ser usados como controles.

***Procesado de las muestras**

El dilutor aspira 17,5 µl de muestra y una pequeña cantidad de aire, lo mismo para los reactivos. (El volumen de muestra en el pocillo debe ser como mínimo de 70 µl para cada técnica más 20 µl por cada técnica adicional).

En el compartimento de cubetas se dispensa la muestra, el reactivo A, el reactivo B y 262,5 µl de tampón.

La medición fotométrica de la reacción se produce durante 30 segundos. La pendiente resultante es utilizada para determinar la tasa media de cambio de absorbancia. La tasa es entonces multiplicada por un factor de ampliación (2.667).

2. ADX™ SYSTEM REA de Abbott®.

El ensayo ADX REA Etanol^{114,115,116,117} es un sistema de medida cuantitativa del etanol en sangre humana, suero, plasma u orina. Este ensayo utiliza la tecnología de atenuación de energía radiante basada en la ley de Beer's.

La concentración de etanol se determina mediante las reacciones catalíticas combinadas de las enzimas de alcohol deshidrogenasa y diaforasa para generar un colorante.

Emplea una curva de calibración de 6 puntos. El rango de concentración del ADX REA está entre 10.0 mg/dl (sensibilidad del ensayo para suero, plasma, orina o sangre fresca) o 15 mg/dl (sensibilidad para sangre post-mortem) y 300mg/dl. Concentraciones por debajo o por encima del rango serán identificadas como LOW o HIGH respectivamente.

*Principio del análisis:

Está basado en el principio de la medida de la intensidad de fluorescencia de una solución que contiene un fluoróforo que es proporcional a la absorbancia de la solución. Si la solución tiene una absorbancia mayor que cero, la atenuación de la intensidad de la fluorescencia puede ser observada, y el grado de atenuación será directamente proporcional a la absorbancia de la solución.

Esta técnica puede ser usada para cuantificar analitos específicos.

La típica secuencia de reacción para REA® es:

ANALITO + REACTIVO (CROMÓGENO)

De forma que cuando un reactivo genera un cromógeno en presencia de un fluoróforo, se observa una atenuación de la intensidad de fluorescencia.

La intensidad de fluorescencia de la solución será inversamente proporcional a la cantidad de cromógeno presente en la solución.

En el caso del análisis de etanol, la secuencia de reacción es la siguiente:

El etanol reacciona con el dinucleótido de nicotinamida-adenina (NAD) mediante la actuación de la enzima alcohol deshidrogenasa dando lugar a acetaldehído y NADH, este último mediante la enzima diaforasa reacciona con colorante de monotetrazolio dando lugar a NAD y MT-formazán.

La relación entre la concentración de etanol y la intensidad de la fluorescencia media se calcula generando una curva estándar. Se analizan los calibradores de etanol suministrados por la casa comercial cuya concentración es conocida y se mide la señal de fluorescencia atenuada resultante. Cuando se lee una muestra cuyo contenido de etanol es desconocido, su concentración se calcula a partir de la curva estándar memorizada.

***Reactivos :**

S: solución sustrato. dinucleótido de nicotinamida-adenina, < 5% en tampón con citrato sódico.

P: solución indicadora. Colorante de monotetrazolio <1% y fluoresceína <0,01% en solvente.

T: solución enzimática. Levadura-alcohol deshidrogenasa <5% y diaforasa >1% en una solución de estabilizante de proteínas con componentes de sangre humana en tampón.

Existen una serie de compuestos que pueden dar lugar a un error <10% en la cuantificación del etanol por este método:

- Anticoagulantes como el Citrato, EDTA, Heparina, Oxalato, Fluoruro sódico.
- Bilirrubina (25mg/dl),
- Colesterol (500mg/dl),
- Hemoglobina (1g/dl),
- Proteínas (10g/dl),
- Triglicéridos (500mg/dl).

Se han observado que presentan reactividad para este método alcoholes como el N-butanol y el N-propanol pudiendo dar variaciones en la medida del etanol. Tanto metanol, acetona, isopropanol, etilenglicol o propilenglicol presentan una reactividad muy baja <1%.

***Componentes del sistema.**

- Lector de código de barras.- cada lote de reactivos viene preparado para el análisis de 50 muestras, y es este lector el que nos indica cuantos análisis se han realizado.
- Sensor térmico.
- Sonda con sensor de nivel.
- Lentes.
- Lámpara.
- Jeringas para el tampón y para la muestra.
- Carrusel de acceso flexible, con una posición R para el lote de reactivos, posiciones para los cartuchos de muestra, posiciones para las cuvetas, numerado y con un mecanismo de enclavamiento.
- Filtro del ventilador.
- Teclado de control.
- Impresora.

***Procesado de las muestras:**

Cada vez que se utiliza un lote de reactivos, o se ha modificado algún componente del sistema, o los controles no dan los valores aceptables se debe realizar una calibración del sistema, para ello se colocará el reactivo en la posición R del carrusel, los calibradores que suministra la casa en las seis posiciones primeras y a continuación los controles también facilitados por la casa comercial y a continuación se hará la calibración (CAL). El software ADX calcula una ecuación de ajuste óptimo de la curva, la cual es utilizada para crear una curva de calibración. Esta curva se memoriza en el instrumento y, a partir de la misma se calcula la concentración de la droga a analizar.

También se debe verificar el buen funcionamiento del sistema óptico a través del Photo Check, comprobar las condiciones de temperatura del instrumento efectuando un Temp Check y verificar el buen estado del sistema de dispensación a través de un Pipet Check.

**3. REMEDI HS™ - Drug Profiling System de Bio-Rad®.
Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).**

Fue desarrollada en 1965 por I. Halasz, C. Horvath, J.F. Huber y otros. Presenta una diferencia importante con respecto a la Cromatografía de Gases, en ésta última, la fase móvil es un gas inerte que no interacciona con las moléculas de la muestra, su única misión es arrastrar dichas moléculas a través del sistema y la separación se consigue por la interacción de los compuestos con la fase estacionaria. En HPLC la fase móvil no es inerte sino que interacciona con las moléculas de la muestra, por lo que representa una variable que podremos seleccionar para mejorar la separación.

***Componentes básicos de un equipo de HPLC:**

- Bomba para propulsar la fase móvil a través del sistema, y un manómetro para controlar su presión.

- Mecanismo de inyección para la introducción de la muestra, debido a que el sistema trabaja a elevada presión la inyección se realiza mediante un sistema de válvulas que permite la unión de la muestra con la fase móvil antes de llegar a la columna, sin perder la presión proporcionada por la bomba.
- Columna que contenga la fase estacionaria, donde se da la separación.
- Detector que nos "muestre" la separación llevada a cabo, mediante una propiedad selectiva.

Los componentes de la fase móvil deben presentar una gran pureza física y química, debido a lo cual se utilizan filtros de acero que deben mantenerse limpios.

REMEDI HS™ - Drug Profiling System de Bio-Rad®.

Consiste en un autoanalizador de HPLC^{118,119,120,121,122,123,124,125,126} para el screening de numerosos tóxicos que permite, trabajando en las condiciones y con los materiales proporcionados por la casa comercial, identificar y cuantificar numerosas sustancias.

*Principios del análisis :

Es un sistema diseñado para trabajar con orinas directamente, y poder dar un resultado con gran rapidez, por este motivo lleva incorporadas columna de purificación y extracción, además de las propias columnas de separación.

En este sistema podemos distinguir por tanto, entre las columnas de preparación de la muestra y las de separación. Por ello, los tóxicos inicialmente son adsorbidos, eliminando los compuestos no deseados de la muestra, y después por medio de un solvente de intercambio son liberados y llevados a las columnas de separación en donde serán aislados por un fenómeno de partición.

El saturador de fase móvil tiene como objeto actuar de precolumna, de forma que la fase móvil disuelva su gel de sílice y llegue a la columna de separación saturada y no disuelva la sílice de ésta.

Como las muestras analizadas presentan un gran número de tóxicos, se emplean dos columnas de separación con empaquetado distinto que permite separar los compuestos de diversa naturaleza química.

La identificación de las sustancias se realiza usando el tiempo de retención relativo a los estandar S1 y S2 y comparando el espectro (entre 250 y 300 nm) de la muestra con los espectros contenidos en la base de datos del sistema.

Los tiempos relativos de retención se calculan de la siguiente forma:

- RRT1: es el tiempo de retención de la droga dividido entre el tiempo de retención del estandar interno 1, teniendo en cuenta que se debe restar el tiempo muerto (tiempo en el que el soluto permanece en la fase móvil).
- RRT2: lo mismo pero con respecto al estandar interno 2.

Otro factor que se tiene en cuenta para la identificación es la longitud máxima de absorción. Para obtener mayor información de los picos lo que hace es una medida de la absorción a múltiples longitudes de onda, lo que le permite diferenciar entre distintos compuestos porque aunque drogas diferentes como por ejemplo la doxepina y morfina presentan una misma λ máxima difieren significativamente en su absorción en otras longitudes de onda.

Todos estos parámetros de la sustancia problema son comparados con cada una de las sustancias de la base de datos, 650 compuestos, y luego mediante un programa de identificación aplicando relaciones matemáticas, es identificado entre las posibles sustancias candidatas aquella que cumple todos los requisitos dando el programa un factor de similitud.

Una vez la sustancia ha sido identificada, para su cuantificación se realiza una multiplicación de la altura del pico en AU por un factor de respuesta, suministrado por la casa comercial, obteniendo los resultados de concentración en ng/ml.

***Componentes del sistema :**

Presenta dos bombas con idéntica estructura.

Rangos de flujo: Bomba A: 0,1-5,0 ml/min
Bomba B: 0,1-2,0 ml/min

Muestrador automático: con capacidad para 50 muestras (tubos eppendorff), con un volumen de inyección de $1000 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$. La jeringa se lava automáticamente entre inyecciones empleando como solución de lavado Exchange Buffer.

Cinco columnas: Purificación, Extracción, Separador 1 y Separador 2 y Saturador de fase móvil. Todas ellas a excepción de la columna de purificación y el saturador se encuentran en un receptáculo a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. El flujo entre estas columnas es a su vez regulado por 4 válvulas.

Detector óptico: con un rango de longitudes de onda 193-305 nm, ancho de banda espectral 2 nm, tiempo de integración 1 segundo, tiempo de resolución cromatográfica 1 segundo, rango de absorbancia lineal 0.005 A.U. a 1,5 A.U. Volumen de microcubeta de 16 μl .

Medios informáticos : Compaq Pentium Computer, SVGA Monitor, Epson-compatible printer, Version 4.32 current software.

***Reactivos :**

- Check Mix: solución control compuesta por: Cafeína, Diazepam (1,50 $\mu\text{g/ml}$), Anfetamina (2,20 $\mu\text{g/ml}$), Imipramina, Morfina, Hidrocodona (cada uno de estas últimas en concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$). Se reconstituye con 10 ml de agua bidestilada. En el caso de la cafeína, su única utilidad es verificar el buen funcionamiento de la bomba A.

- Internal Estándar Combination (IS Combination). Viene en forma liofilizada y para su reconstitución se emplea 0,5 ml de Wash Reagent y 9,5 ml Internal Standard Diluent. Agitando durante 5 minutos. No emplear hasta pasados 30 minutos de su reconstitución. Se trata de una solución compuesta por dos estándares IS1 y IS2 :

El IS1 es N-etilnordiazepam y se emplea para monitorizar el funcionamiento de la columna Separador 1.

El IS2 es Clorfeniramina y es para verificar la adecuada separación de la columna Separador 2.

***Procesado de la muestra :**

Antes de comenzar con el análisis de nuestras muestras problemas, se introduce en el sistema una muestra control formada por 1000 µl de Check Mix y 200 µl de Internal Estándar Combination, previamente centrifugados a 12000 r.p.m. durante 2 minutos. El hecho de la identificación de todas las sustancias que contiene el Check Mix y en sus concentraciones nos indicará que el sistema presenta un correcto funcionamiento.

Las muestras que se introducen en el sistema son extractos reconstituidos con buffer fosfato pH=6. Siempre se partirá de 1000 µl de muestra que se mezclarán con 200 µl de Internal Standard Combination, y en el cromatograma obtenido siempre deberán estar identificados los dos IS1, IS2.

4. GAS CHROMATOGRAPH SYSTEM - MASS SELECTIVE DETECTOR 6890 de Hewlett Packard®.

Injector HP 6890 Series de 3 posiciones.
Mass Selective Detector HP 6890 series.
GC Autosampler Controller HP.
Pentium Computer, Monitor AVGA, Deskjet HP.

Cromatografía de gases con espectrometría de
masas^{127,128,129,130,131,132,133,134}

El gas portador empleado es Helio, se emplea una columna capilar con lo que se consigue elevada resolución, más precisión en el análisis cuali y cuantitativo, mayor sensibilidad y reducción en el tiempo de análisis. Es una columna HP-5MS, con una fase estacionaria apolar, de bajo sangrado y con una temperatura máxima de trabajo de 325°C.

La inyección en modo Splitless, en donde prácticamente toda la muestra se introduce en la columna, permite determinar exactamente la cantidad de muestra inyectada y emplear temperaturas de inyección más bajas.

Se emplea un detector selectivo de masas, que nos proporciona una mayor seguridad en la identificación del compuesto y una sensibilidad alta.

5. GAS CHROMATOGRAPH 3920 B - HEADSPACE SAMPLER HS-40 de Perkin Elmer®.

Headspace Sampler HS-40. Perkin Elmer.
Integrator Perkin Elmer - Nelson.

Cromatografía de gases con inyector espaciador en cabeza^{135,136}.

En nuestro trabajo, este sistema es empleado únicamente para confirmar el alcohol etílico.

El hecho de emplear un inyector espaciador en cabeza nos permite analizar directamente sangre completa, independientemente del estado de la muestra.

*Espaciador en cabeza:

Analiza la cámara de gas sobre la muestra, cuyos componentes están en equilibrio con los de la matriz problema que se mantiene a temperatura constante en un vial cerrado. Entre las ventajas, destacar que no necesita preparación alguna de la muestra, y que además se alarga la vida de la columna. El sistema aquí utilizado tiene capacidad para 40 viales.

La columna empleada, es una empaquetada de 2 m de longitud Carbowax 15%. No se precisa de columna de mayor longitud, ya que los tóxicos que se investigan tienen bajo peso molecular.

El detector del sistema es un FID (detector de ionización de llama) que responde a compuestos que producen iones cuando son quemados en una llama de aire/hidrógeno. Los flujos de hidrógeno y aire son medidos por separado.

Para la calibración se emplean tres niveles de concentración de etanol: 1 gr/l, 2 gr/l y 3 gr/l.

Como "internal standard" se emplea el n-propanol, en diferentes concentraciones. La cuantificación se hace por integración en base a la altura.

c) Instrumentos estadísticos.

Programa informático-estadístico SPSS.

3.2 MÉTODOS.

3.2.1 Toma de muestras biológicas.

Las muestras han sido tomadas por el personal del laboratorio de toxicología del Instituto Anatómico Forense durante la práctica de la autopsia a solicitud del médico forense responsable del cadáver.

La sangre se ha recogido de la aurícula derecha (abierta la cavidad torácica y expuesto el corazón) mediante punción y aspiración con aguja y jeringa estériles, en cantidad de 20 cc. El contenido aspirado inmediatamente se vierte en dos tubos de 10 ml que previamente han sido rotulados con el número de registro del IAF, nombre y apellidos del cadáver y la leyenda "*sangre de aurícula derecha*". El envase es herméticamente cerrado y en el tapón se rotula también el número de registro del cadáver.

Por el mismo procedimiento se han tomado 5 cc de sangre que son introducidos en un tubo de 5 ml que contiene K3 EDTA sin dejar cámara aérea, el tubo cerrado se agita 10 segundos y se rotula de forma similar a los envases anteriormente descritos. La finalidad de esta muestra es el análisis de alcohol en sangre.

La toma de la muestra urinaria se ha realizado por punción y aspiración del contenido vesical (tras apertura de abdomen y exposición de la vejiga) con aguja y jeringa estériles. Se ha recogido en cada caso un volumen de al menos 20 ml que se introdujo en tubos de plástico de 10 ml rotulados con el número de registro del cadáver, nombre y apellidos del mismo y leyenda "orina", los tapones también se rotularon con el número de registro.

El humor vítreo destinado a la determinación de anticuerpos frente a VIH-1/2 se ha extraído por punción en el ángulo externo del globo ocular, en la cámara posterior, con aspiración de 0,5 cc de su contenido, utilizando aguja y jeringa estériles. El material intraocular obtenido es inmediatamente analizado, según el procedimiento que posteriormente se detalla, para la valoración de los anticuerpos mencionados.

3.2.2 Remisión de muestras al laboratorio. Cadena de custodia.

Las muestras obtenidas son conducidas al laboratorio de toxicología por el mismo personal que las ha recogido. Dadas las características del IAF, el traslado del material desde la sala de autopsias al laboratorio toxicológico - sólo requiere subir un piso - se efectuó en el montacargas que comunica la sala tanatológica con los laboratorios de la planta superior.

La proximidad del lugar analítico al de procedencia de las muestras evita la adopción de "cadena de custodia" y la conservación de las muestras previa a su procesamiento analítico.

En los cadáveres del grupo "*con jeringa*", ésta acompaña al cuerpo desde el lugar del levantamiento hasta el IAF. El personal del laboratorio traslada la jeringa objeto de análisis, junto con los biofluidos extraídos, identificándola con el mismo número de registro que aquéllos, que a su vez coincide con el correspondiente al ingreso del cadáver en el IAF.

3.2.3 Tratamiento preliminar de las muestras.

El tratamiento preliminar de los biofluidos obtenidos para análisis de drogas de abuso se realizó de forma inmediata a su llegada al laboratorio de toxicología siguiendo los siguientes métodos según el tipo de muestra.

3.2.3.1 Orina.

- Un tubo conteniendo 10 ml de orina se centrifuga a 3500 r.p.m. (Labofuge 200) durante 10 minutos.
- Se toman 3 ml de la parte superior del tubo, se añaden 1 ml de buffer acetato (pH 5,2) y 50 µl de enzima β-glucuronidasa/aril-sulfasa (Merck). La mezcla se incuba a 55° C durante 20 minutos.
- Ajustamos a pH 8 con KOH 1M.
- Centrifugamos a 3500 r.p.m. durante 10 minutos.

- Recuperamos el sobrenadante y se introduce en tubo de 5 ml cerrado para llevar a procedimiento de extracción. Este líquido resultante se denomina "muestra pretratada".

3.2.3.2 Sangre.

- Dos tubos conteniendo cada uno 10 ml de sangre se centrifugan a 3500 r.p.m. (Labofuge 200) durante 10 minutos.
- Se toman 3 ml del suero obtenido a los que se añaden 2 ml de buffer fosfato (pH 6).
- La mezcla se introduce en baño de ultrasonidos (Branson 1200) durante 30 minutos.
- Se centrifuga nuevamente la mezcla a 3500 r.p.m. durante 10 minutos.
- Recuperamos el sobrenadante que se guarda en tubo de 5 ml cerrado para llevar a extracción, obteniendo así lo que llamamos "muestra pretratada".

3.2.3.3 Jeringuilla.

Todas las jeringas que se han recibido fueron del tipo "insulina".

- Se lava, aspirando e impeliendo varias veces, el interior de la jeringuilla con 1 dl de buffer fosfato (pH 6).
- Se toman 2 ml del líquido de lavado y se centrifugan a 3500 r.p.m. (Labofuge 200) durante 10 minutos.
- Se toman 1,5 ml del sobrenadante obtenido a los que se añaden 2 ml de buffer fosfato (pH 6).
- La mezcla se lleva al baño de ultrasonidos (Branson 1200) en el que se mantiene durante 15 minutos.
- Centrifugamos nuevamente a 3500 r.p.m. durante 10 minutos.
- Recogemos el sobrenadante que guardamos en tubo cerrado de 5 ml para llevar al procedimiento de extracción. Obtenemos así lo que denominamos "muestra pretratada".

3.2.4 Métodos de extracción en fase sólida y derivatización.

3.2.4.1 Métodos de extracción en fase sólida.

El procedimiento de extracción - en fase sólida - se aplica al líquido sobrenadante obtenido del tratamiento preliminar de la muestra. El método se realiza de igual forma independientemente del tipo de muestra pretratada.

Utilizamos la bomba de vacío para extracción Sep Pack Vacuum Station de Millipore Watters Chromatography, en la que se pueden realizar 12 extracciones de forma simultánea⁴³.

Se realizan dos métodos diferentes de extracción en fase sólida^{137,138,139}, uno de ellos obtiene un extracto apropiado para ser introducido en REMEDI HS™ -HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia) -, el otro proceder extractivo nos ofrece un extracto que reúne las condiciones para ser utilizado en cromatografía de gases previa derivatización del mismo. Así pues, los llamamos respectivamente: "procedimiento de extracción para HPLC" y "procedimiento de extracción para CG".

A.- Procedimiento de extracción para HPLC :

1. Acondicionamiento de la columna (Cartridges Sep-Pack® Vac Rc, 500 mg, C₁₈ de Watters) con 2 ml de metanol, seguido de 2 ml buffer fosfato pH 6.
2. Se adiciona a la columna la "muestra pretratada", es decir, el líquido sobrenadante final obtenido en el proceso de tratamiento inicial de las muestras que antes se ha detallado.
3. Se lava la columna con 1 ml de agua bidestilada.
4. Adicionamos 0,5 ml de ácido acético 0,01 M.
5. Se procede a secar la columna.
6. Eluimos el contenido de la columna con 4 ml de acetona/cloroformo en proporción (1:1 v/v).
7. Segunda elución, con 4 ml de acetato de etilo al 2 % de amoníaco.
8. Se reúnen los eluatos y se llevan a sequedad en corriente de nitrógeno a 50° C hasta obtener un residuo seco.

B.- Procedimiento de extracción para CG :

1. Acondicionamos la columna (Cartridges Sep-Pack® Vac Rc, 500 mg, C₁₈ de Watters) con 2 ml de metanol seguidos de 2 ml de buffer fosfato pH 6.
2. Adicionamos la muestra pretratada, según método de tratamiento preliminar de las muestras.
3. Lavamos la columna con 1 ml de agua bidestilada.
4. Se adiciona 1 ml de metanol.
5. Secamos la columna.
6. Eluimos el contenido de la columna con 4 ml de cloroformo/isopropanol (80/20 v/v) al 2 % de amoníaco.
7. El eluato se lleva a sequedad en corriente de nitrógeno a 50°C.

3.2.4.2 Procedimientos de derivatización de las muestras para análisis en Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas.

Tras realizar la extracción en fase sólida por el procedimiento apropiado para Cromatografía de Gases (CG), se pasa a derivatizar^{140,141,142,143} el extracto en función del tipo de droga de abuso a detectar.

A.- Derivatización para opiáceos^{144,145} :

1. El extracto desecado se reconstituye con 50 µl de una solución BSTFA-TMCS (99:1 v/v).

BSTFA : Bis-trimethylsilyl-trifluoroacetamida de Merck.

TMCS : Clorotrimetilsilano de Merck.

2. Se deja incubar a 55° C durante 30 minutos.
3. Se introduce en microvial Target DP™ para inyección en CG.

B.- Derivatización para cocaína y sus metabolitos^{146,147,148} :

1. Reconstituimos el extracto con 50 µl de anhídrido pentafluoropropiónico y 100 µl de 2,2,3,3,3-pentafluoropropanol.
2. Se incuba a 60° durante 20 minutos.
3. Llevamos a sequedad nuevamente en corriente de nitrógeno.
4. Reconstituimos nuevamente con 100 µl de acetato de etilo que introducimos en microvial para inyección en CG.

3.2.5 Métodos analíticos.

En este apartado incluimos la estrategia analítica puesta en práctica utilizando distintos instrumentos que se corresponden a su vez con diferentes fundamentos analíticos. También detallo los métodos específicos de trabajo con cada uno de los instrumentos de análisis.

3.2.5.1 Plan analítico.

La obtención de los resultados toxicológicos es la fase final de un plan analítico que hemos estructurado para drogas de abuso - excepto etanol- en tres fases:

Fase 1. Identificación por técnicas presuntivas, también denominadas de screening o cribaje.

- Inmunoanálisis enzimático homogéneo por EMIT™ SYVA.
- Test inmunológico de anticuerpos monoclonales por TRIAGE™⁸.

Nos han permitido conocer la presencia de grupos químicos de drogas de abuso : opiáceos, benzodiacepinas, cocaína y sus metabolitos, etc.

Fase 2. Identificación por técnicas de confirmación.

- Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) por autoanalizador REMEDI HS™ - Drug Profiling System.
- Cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas por Gas Chromatograph System HP 6890 con Mass Selective Detector HP 6890.

Fase 3. Cuantificación tras los resultados obtenidos por técnicas de confirmación (HPLC, Cromatografía de gases).

El plan analítico para cada tipo de muestra fue el que se especifica, según su naturaleza :

1. Orina.

- Sin tratamiento preliminar se analizó por técnicas de presunción : EMIT y TRIAGE⁸.
- Posteriormente se realizó tratamiento preliminar y extracto en fase sólida y se analizó por HPLC - REMEDI HS.
- Además del tratamiento preliminar y extracción, se derivatizó para llevar a CG con EM*.

2. Sangre.

- Se hizo tratamiento preliminar y extracción en fase sólida, y se analizó por técnicas de presunción y HPLC - REMEDI HS.
- Además se derivatizó y analizó por CG con EM*.

3. Jeringuilla.

- Con tratamiento preliminar y extracción se llevó a análisis por técnicas presuntivas y posteriormente a HPLC - REMEDI HS.
- Además de lo anterior, se derivatizó para CG con EM*.

* Las muestras que fueron analizadas por Cromatografía de Gases con detector de espectrometría de masas corresponden al año 1997, ya que los años anteriores no estaba disponible la técnica en nuestro laboratorio.

3.2.5.2 Métodos analíticos instrumentales para detección de drogas de abuso, excepto etanol.

3.2.5.2.1 Test inmunológico de anticuerpos monoclonales¹⁰⁹. TRIAGE™⁸.

- Se abre la cavidad donde se encuentran los reactivos liofilizados.
- Se toman con la pipeta 100 µl de la muestra que puede ser:
 - orina centrifugada a 3500 r.p.m.durante 10 minutos (Labofuge).
 - extracto de suero según "procedimiento de extracción en fase sólida para HPLC" reconstituído con 1000 µl de buffer fosfato pH 6.
 - extracto de jeringuilla según "procedimiento de extracción en fase sólida para HPLC" reconstituído con 1000 µl de buffer fosfato pH 6.
- Se introduce la muestra en la cavidad de los reactivos y se espera 10 minutos.
- Con la micropipeta traspasamos el líquido de la cavidad al lugar indicado de la banda de reacción, fase sólida con anticuerpos inmovilizados frente a los ocho grupos de sustancias: opiáceos, cocaína, benzodiacepinas, antidepresivos tricíclicos, anfetamina, metadona, barbituratos, tetrahidro-cannabinoides.
- Leemos el resultado por formación de bandas.
- Anotamos el resultado y fotocopiamos los resultados del cassette.

3.2.5.2.2 Inmunoanálisis enzimático homogéneo^{110,111,112,113}. ETS™SYVA..

- Calibrado cotidiano del sistema, según procedimiento Emit.
- Se pipetea 1 ml de cada muestra en los correspondientes pocillos del tambor tecleando en la computadora del sistema el número de muestra y tipo de matriz originaria.
- Se utilizaron los siguientes tipos de muestras:
 - orina centrifugada a 3500 r.p.m.durante 10 minutos (Labofuge).
 - extracto de suero según "procedimiento de extracción en fase sólida para HPLC" reconstituído con 1000 µl buffer fosfato pH 6.

- extracto de jeringuilla según "procedimiento de extracción en fase sólida para HPLC" reconstituido con 1000 µl de buffer fosfato pH 6.

- En cada tambor de muestras se colocan aleatoriamente dos de los tres calibradores disponibles (negativo, cutoff y positivo) como controles.

- Se analizaron los grupos: opiáceos, benzodiacepinas, antidepresivos tricíclicos, barbituratos, anfetaminas, cocaína, metadona y propoxifeno.

- Las concentraciones de corte utilizadas (0,3 µg/ml) son las recomendadas por organismos internacionales :NIDA, Drugs of Abuse Testing Part III (1996-1997) de la Comisión europea.

3.2.5.2.3 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)^{118,119,120,121,122,123,124,125,126} REMEDI HS™ Drug Profiling System. BIO-RAD®

- Preparación de la solución control con 1000 µl de Check Mix más 200 µl de Internal Standard Combination que se centrifugan a 12000 r.p.m. durante 2 minutos y se inyecta en el sistema.

- Control cotidiano con la solución detallada, verificando en el cromatograma la identificación de los componentes del control y su señal (AU).

- Reconstitución de los extractos procedentes de muestras de orina, sangre y jeringuilla con 1000 µl de buffer fosfato pH 6 que se lleva a eppendorf.

- Se añaden al contenido del eppendorf 200 µl de Internal Standard Combination agitando 10 segundos y centrifugando la mezcla a 12000 r.p.m. durante 5 minutos en Biofuge 13.

- Se destapa el tubo eppendorf y se coloca en la parrilla del muestreador automático del sistema.

- Se acciona el instrumento a través del sistema informático.

- Se obtiene cromatograma, que siempre identifica los dos estándares internos, se imprime en papel para su archivo y se guarda también en soporte magnético (CD).

3.2.5.2.4 Cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas. Gas Chromatograph System Hewlett Packard 6890 con Mass Selective Detector Hewlett Packard 6890^{127,128,129,130,131,132,133,134}

- Terminada la derivatización e introducido en el microvial para inyección se coloca en el GC Autosampler Controler de Hewlett Packard.

- Se practica la inyección automatizada en modo splitless (2 µl) por Inyector Hewlett Packard 6890 de tres posiciones.

- Las condiciones cromatográficas utilizadas son:

- Columna HP-5MS.

- Temperatura inicial 50°C durante 1 minuto, posteriormente incremento de 20°C/minuto hasta alcanzar 290° C que se mantiene 5 minutos.

- Flujo constante de helio a 1 ml/minuto (sovent delay 3,8 min.)

- Detector espectrómetro de masas en modo Scan con rango de masas entre 50 y 550.

- Base de datos de comparación identificativa utilizada ha sido Pfleger/Maurer/Weber MS Drug Library.

- Cromatogramas y espectros de masas de cada pico son obtenidos en papel y soporte informático para su archivo en ordenador.

3.2.5.3 Métodos analíticos instrumentales para detección de etanol.

Se han utilizado dos técnicas para el análisis de etanol: ADX REA-Ethanol (atenuación de energía radiactiva) y Cromatografía de gases con inyector espaciador en cabeza de Perkin Elmer (HS-40).

Describimos los procedimientos utilizados en cada una de ellas:

3.2.5.3.1 ADX™ System REA-Ethanol^{114,115,116,117}

- Calibración semanal del sistema o en tiempo menor si se inicia el consumo de un nuevo lote o variación en resultados de controles.
- Verificación semanal del sistema óptico (Photo check), de la temperatura (Temp check) y del sistema de dispensación (Pipet check).
- Se pipetea sangre del tubo con K3 EDTA y se lleva a la cavidad redondeada del cartucho de muestra en el carrusel, enrasando en la marca de nivel. Tomando tantas muestras como análisis a realizar, no superando nunca la cantidad de 10.
- Se coloca el lote de reactivos en la posición R y se colocan tantos cartuchos y cubetas de vidrio como muestras vamos a analizar.
- También se incluyen entre las diez muestras a analizar dos controles, de los tres disponibles, que se sitúan aleatoriamente con las muestras problema.
- Se leen los resultados identificándolos con el número correspondiente a cada muestra.

3.2.5.3.2 Cromatografía de gases con inyector espaciador en cabeza^{135,136}. Gas Chromatograph 3920 B con Headspace Sampler HS-40 de Perkin Elmer.

- Se elabora recta de calibrado mensualmente con Calibrators REA® Ethanol de 0, 25, 50, 100, 200 y 300 mg/dl.
- Se realiza cotidianamente cálculo de sensibilidad.
- La muestra para análisis se prepara extrayendo 0,5 ml de la sangre contenida en tubo K3 EDTA que se llevan a un vial de vidrio de 20 ml, al que se añaden 0,5 ml de n-propanol.
- El vial conteniendo la muestra se cierra herméticamente con tapón de goma y arandela metálica. Se introduce el vial en el muestreador automatizado Headspace Sampler HS-40.

* Condiciones de trabajo :

- La muestra se termostatiza a 75° C durante 30 minutos y se presuriza durante 3 minutos.
- Tiempo de inyección de 0,2 segundos y tiempo de retroceso de la aguja de 8,8 segundos.
- Temperatura de inyección y de línea de transferencia de 110° C, temperatura del horno de 70° C, temperatura del detector de 150° C.
- Tiempo de duración del cromatograma 7 minutos.

- Todas las muestras se analizan dos veces.
- Por cada tres muestras problema se introduce un calibrador o control de REA® Ethanol de Abbott® de distintas concentraciones, así como controles de n-propanol.
- El cromatograma se archiva en papel y soporte informático.

3.2.5.4 Detección anticuerpos frente a VIH-1 y VIH-2. TEST PACK de Abbott®, Immediate Care Diagnostics™.

La detección de anticuerpos de VIH se ha realizado en muestras de humor vítreo siguiendo el siguiente proceso :

- Inmediatamente después de extraer la muestra se introduce en tubo plástico de 5 ml, rotulando el número de identificación.
- Extraemos el disco de reacción y le agregamos 3 gotas de reactivo A.
- Agregamos 5 gotas del reactivo B al recipiente de dilución.
- El asa de toma de muestras se introduce en el tubo que contiene el humor vítreo extraído y se rota suavemente 3 veces en la muestra.
- Introducimos el asa con la muestra tomada en el recipiente de dilución, agitando varias veces. Desechamos el asa.
- Vaciamos el contenido del recipiente de dilución en el filtro violeta del disco de reacción, dejando que penetre completamente. Añadimos el reactivo C, llenando el cuentagotas hasta la marca, al filtro violeta y dejamos que penetre completamente.
- Agregamos 5 gotas del reactivo D al filtro violeta y esperamos 3 minutos.
- Retiramos el filtro violeta y lo eliminamos. Añadimos el reactivo E, llenando el cuentagotas hasta la marca y se vierte en el pocillo del disco de reacción. Esperamos a que el líquido penetre completamente.
- Agregar 3 gotas del reactivo F al disco de reacción y esperamos 2 minutos.
- Se añade el reactivo G, llenando el cuentagotas hasta la marca, al disco de reacción y leemos el resultado.

3.2.6 Criterios para la interpretación de resultados analíticos.

3.2.6.1 Drogas de abuso, excepto etanol.

Se han utilizado en la interpretación de resultados las concentraciones de corte aconsejadas por organismos internacionales para distintas sustancias en función del tipo de técnica analítica utilizada.

Técnicas presuntivas.	µg/l	Técnicas de confirmación.	µg/l
opiáceos	300	morfina total	150
		oxicodona	150
		codeína	200
metab. cocaína	300	benzoilecgonina	150
		cocaína	200
anfetaminas	300	anfetamina	200

1. Para dar en el resultado analítico una **sustancia identificada** se han cumplido los siguientes criterios:

- Detectar su grupo por al menos una técnica de presunción*.
- Identificar la sustancia en REMEDI HS como "candidato mach".
- "Factor de similitud" menor o igual 0,060 al comparar espectro UV de la sustancia problema con el correspondiente de la base de datos de REMEDI HS.
- Confirmar la identificación de la sustancia por Cromatografía de gases - Espectrometría de masas**.

* En ocasiones se ha detectado por las dos presuntivas que aquí utilizamos.

** Este criterio se ha seguido con las muestras del año 1997.

2. Para dar en el resultado la **sustancia cuantificada** se ha realizado:

- Operación matemática partiendo de la altura del pico cromatográfico en AU (Peak HT) que se multiplica por el "factor respuesta" (RF) que tiene calculado, por rectas de calibración, para cada sustancia la casa BIO-RAD. Obtenemos así la cuantificación de cada producto con un error estimado de menos del 10 %.

3.2.6.2 Alcoholemia.

Los resultados de alcoholemia se han valorado según los siguientes principios:

- Detección y cuantificación en ADX™ SYSTEM REA de Abbott®.
- Confirmación de los resultados por Cromatografía de gases con inyector espaciador en cabeza (CG-HS-40) analizando cada muestra por duplicado.
- Cuantificación : se tomó la media de los dos valores obtenidos por la técnica de confirmación CG-HS-40.

3.2.6.3 Determinación de anticuerpos frente a VIH-1/VIH-2.

Se han seguido los criterios de interpretación de resultados que vienen determinados por la casa comercial Abbott para su Test Pack Immediate Care Diagnostics.

3.2.7 Cumplimentación de la "**Ficha de recogida de datos**".

Para la agrupación y sistematización de los datos correspondientes a cada cadáver se ha cumplimentado la "**Ficha de recogida de datos**" que queda expuesta en el apartado 3.1.5.

La recogida de datos se ha realizado según el siguiente procedimiento:

1. Datos generales.

Fueron tomados del expediente que de cada cadáver existe en la Secretaría del Instituto Anatómico Forense.

2. Antecedentes de dependencia a drogas.

Se recogieron de la historia social que elaboran los Trabajadores Sociales mediante entrevista con familiares/amigos y documentos clínicos aportados por ellos.

- *Droga preferente.*

Entendemos por droga preferente aquélla que se consume de forma principal atendiendo a la cantidad, frecuencia, antigüedad, etc.

Se ha distinguido entre: *heroína, cocaína, politoxicomanía y desconocida*. Se utiliza *politoxicomanía* cuando no se puede establecer una concreta sustancia de consumo preferente entre las que se ofrecen, o bien existe el convencimiento que son varias las drogas habitualmente consumidas.

- *Vía de administración.*

Se ha recogido la vía de administración habitual según la entrevista con las personas del entorno del fallecido y los antecedentes clínicos.

Distinguimos : *intravenosa, fumada, esnifada, desconocida*.

- *Lugar de tratamiento deshabitador.*

Hemos tomado los distintos tipos de instituciones en las que siguieron tratamiento deshabitador los miembros participantes en este trabajo.

Diferenciamos : *CAT/CAD, granja, Patriarca, Proyecto Hombre, Remar, cárcel, psiquiátrico, ninguno, desconocido.*

Se entiende por *granja* el tratamiento deshabitador que se ha seguido en esa modalidad de centro, siempre que no se contemple específicamente en otra categoría. Cuando se considera *ninguno* es porque consta que nunca estuvo en tratamiento.

- *Antecedentes médicos : hepatitis, SIDA.*

A través de la entrevista con familiares y personas del entorno del fallecido se ha podido obtener información sobre antecedentes médicos relacionados con infecciones de hepatitis y SIDA. También los documentos clínicos aportados por el médico forense nos han permitido conocer estos padecimientos.

3. Datos médico-forenses.

Obtenidos de la entrevista personal con el médico forense responsable del caso y del expediente del cadáver en la secretaría del IAF.

- *Procedencia del cadáver.*

Todos los cadáveres utilizados en el trabajo proceden del partido judicial de Madrid, se trata de un criterio general de inclusión. Cuando aquí se valora la procedencia nos referimos al tipo de lugar en dónde se encontró el cadáver y se hizo la diligencia de *levantamiento del cadáver*.

Hemos considerado los siguientes lugares dentro de esta variable : *calle, casa, hospital, cárcel, desconocido.*

Dentro del apartado *calle* incluimos los lugares abiertos al público en general, entre ellos : parques, jardines, establecimientos públicos, servicios públicos, transportes públicos.

En la categoría *casa* se comprenden los lugares en los que vive habitualmente el sujeto u otra persona constituyendo su morada. Se incluyen : habitación de hotel o pensión, domicilio de un amigo o familiar, lugar habitual de vivienda aunque no lo sea formalmente (p.e.: nave industrial, almacén)

Hospital se refiere a instituciones sanitarias en general : clínicas privadas, centros de salud, ambulatorios, centros de atención a drogodependientes, etc.

Se incluye dentro de *cárcel* además de los establecimientos penitenciarios propiamente dichos otras dependencias para detenidos (policiales, judiciales).

- *Etiología médico-legal.*

Las formas médico-legales de muerte violenta son clásicamente distribuidas en tres categorías : *homicida, suicida y accidental.*

En este trabajo mantenemos las mismas formas tradicionales y añadimos una categoría de *otros* para recoger dos casos que a criterio del médico forense responsable no se ajustaban a las anteriores.

- *Causa fundamental de la muerte.*

Se consideran cuatro categorías en los diagnósticos necrópsicos de *causa de muerte fundamental* .

La causa *sobredosis*, como expresión de una administración excesiva de droga, es diferenciada por los médicos forenses de la **Reacción Adversa por Drogas de Abuso RADA** en la que la administración de la sustancia no se considera que se haya producido en cantidad superior a lo habitual.

La categoría *otras* reúne diversos diagnósticos necrópsicos siempre relacionados directamente con el consumo de drogas de abuso (p.e. : "fracaso multiorgánico relacionado con el consumo de drogas").

- *Causa inmediata de la muerte.*

Hemos distinguido seis causas distintas, según los diagnósticos aportados por los médicos forenses en el correspondiente expediente de cada caso :

Reacción Adversa a Drogas de Abuso (RADA).

Parada Cardio-Respiratoria (PCR).

Edema Agudo de Pulmón (EAP).

Insuficiencia Cardio-Respiratoria (ICR).

Shock Tóxico (ST).

Otros.

4. Datos analíticos toxicológicos.

Recogidos los resultados de cada una de las técnicas y sistemas analíticos se llevaron al cuadro correspondiente de la ***"Ficha de recogida de datos"***, de acuerdo con los criterios de interpretación descritos.

3.2.8 Método estadístico.

Los datos recogidos en ***"Ficha de recogida de datos"*** se incorporaron al programa estadístico SPSS, realizando la correspondiente tabla y procediendo al análisis de resultados por medio de

- Descriptiva de variables cualitativas.
- Descriptiva de variables cuantitativas.
- Test de comparación de proporciones.
- Test de Kolmogorov.
- Comparación Medias Independientes, test de Mann Whitney.
- Prueba de t-Student.
- Coeficientes de correlación de Spearman.
- Coeficientes de correlación de Pearson

Método estadístico:

Para el procesamiento de los datos se diseñó una tabla con el programa SPSS para Windows, en la que se incluyeron todos los datos para su estudio.

Inicialmente se estudió el ajuste a una distribución normal de las variables numéricas; aplicando métodos estadísticos paramétricos a las variables que se ajustaban a la normal y no paramétricos al resto de variables.

Se estudió la estadística descriptiva calculando:

- Variables que se ajustan a la normal:

- Media
- Desviación estándar
- Intervalo de confianza
- N° de casos válidos.

- Variables que no se ajustan a la normal:

- Mediana
- Moda
- Rango
- N° de casos válidos
- Percentiles.

Para conocer la existencia de diferencias significativas entre dos muestras se utilizó la comparación de medias independientes cuando las dos variables se ajustaron a la normal y el método de Mann-Whitney en caso contrario.

En el estudio analítico, para conocer la relación entre dos variables cuantitativas se obtuvo el coeficiente de correlación de Pearson en las variables que se ajustan a la normal, y el de Spearman en las que no se ajustan.

ABRIR CAPÍTULO 4

